



Alexandre Duarte Barbosa

Licenciado em Biotecnologia

Avaliação da Composição Mineral de Suplementos Alimentares, por Fluorescência de Raios-X

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Fitotecnologia Nutricional para a Saúde Humana

Orientador: Prof. Doutor Fernando Henrique da Silva
Reboredo da Faculdade de Ciências e Tecnologia da
Universidade Nova de Lisboa

Co-orientador: Prof. Doutor Mauro António Moreira Guerra
da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade
Nova de Lisboa

Jurí:

Presidente: Doutor Fernando Henrique da Silva Reboredo,
Prof. Auxiliar com Agregação – FCT/UNL

Vogais: Doutora Patrícia Alexandra Dias Brito Palma, Prof^a.
Adjunta do Instituto Politécnico de Beja
Doutora Elsa Maria da Cruz Reis Vasco, Técnica
Superior de Saúde do Instituto Nacional de Saúde
Dr. Ricardo Jorge



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro 2018

Avaliação da Composição Mineral de Suplementos Alimentares, por Fluorescência de Raios-X

Copyright © Alexandre Duarte Barbosa, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todos os que me acompanharam na elaboração deste projeto.

A todos deixo o meu sincero agradecimento.

Primeiramente, agradeço ao Professor Doutor Fernando Reboredo pela disponibilidade e excelente orientação que me foi prestada para a realização do estágio.

À empresa Biosamara um especial agradecimento, particularmente ao Dr. Miguel pela contribuição dos seus produtos para avaliação da composição mineral, contribuindo para a realização do meu estágio de investigação na FCT, e também para a minha formação académica e pessoal.

Agradeço ao Professor Doutor Mauro Guerra pela compreensão, sentido prático e auxílio prestado. Agradeço pelo interesse com que encarou este trabalho e por providenciar todas as condições necessárias à sua realização, que contribuiu bastante para a minha adaptação e aprendizagem.

Ao colega Walter Pinter agradeço pela predisposição, disponibilidade e recomendações que foram importantíssimas e decisivas para a realização da presente dissertação.

A toda a minha família, principalmente os meus pais, não só pela atenção, força e paciência que sempre me transmitiram, mas também, pela educação, valores e princípios éticos transmitidos na minha formação enquanto indivíduo.

Índice

AGRADECIMENTOS	3
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.....	8
RESUMO.....	10
SUMMARY	11
1 INTRODUÇÃO	12
2 BREVE CARACTERIZAÇÃO DOS SUPLEMENTOS	17
2.1 Cacau (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	17
2.2 Maca (<i>Lepidium meyenii</i> Walpers).....	18
2.3 Bagas de Gogi (<i>Lycium barbarum</i> L.).....	19
2.4 Moringa (<i>Moringa oleifera</i> Lam.).....	20
2.5 Ashwagandha (<i>Withania somnifera</i> (L.) Dunal).....	21
2.6 Proteína de Cânhamo (<i>Cannabis sativa</i> L.).....	22
2.7 Camu Camu (<i>Myrciaria dubia</i> (Kunth) McVaugh).....	23
3 MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 Descrição e Preparação das Amostras	25
3.2 Configuração das Análises	27
3.3 Validação do Método Analítico	27
3.4 Limite de Detecção	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1 Caracterização das Amostras.....	30
4.2 Composição Mineral da Maca	30
4.3 Composição Mineral das Bagas de Goji.....	37

4.4	Composição Mineral do Cacau.....	42
4.5	Composição Mineral da Moringa.....	47
4.6	Composição Mineral da Proteína de Cânhamo	52
4.7	Composição Mineral da Ashwagandha	55
4.8	Composição Mineral de Camu Camu	58
5	CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS.....	62
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

Índice de Figuras

Figura 1 – Cacau em Pó Embalado.....	17
Figura 2 – Maca em Pó Embalada	19
Figura 3 – Bagas de Gogi em Pó Embaladas.....	20
Figura 4 – Moringa em Pó e Folhas de Moringa.....	21
Figura 5 – Ashwaganda em Pó Embalada	22
Figura 6 – Proteína de Cânhamo em Pó Embalada	23
Figura 7 – Camu Camu em Pó Embalada	24
Figura 8 – Pastilha colocado no filme de Mylar e inserido no respetivo slide.....	26
Figura 9 – Gráfico Representativo das Concentrações Minerais de Quatro Amostras de Maca; MN=maca negra; MV=maca vermelha; MA=maca amarela; MX=maca xpresso	31
Figura 10 – Gráfico Representativo das Concentrações Minerais de Bagas de Goji Biológicas (Gb) e Não Biológicas (Gnb)	37
Figura 11 – Gráfico Representativo das Concentrações Minerais do Cacau com Diferentes Formas. CPa=cacau em pasta; CPe=cacau em pepita; Cpo=cacau em pó.....	42
Figura 12 – Gráfico representativo das concentrações minerais da moringa com diferentes origens. MM=Moringa de Moçambique; ME=Moringa do Egipto	48
Figura 13 – Gráfico representativo das concentrações minerais da proteína de cânhamo com diferentes origens. C=Cânhamo genérico; CCHN=Cânhamo da China; CL=Cânhamo da Lituânia	52
Figura 14 – Gráfico representativo das concentrações minerais da Ashwagandha Biológica (Ab) e Não Biológica (Anb).....	56
Figura 15 – Gráfico representativo das concentrações minerais de Camu Camu Premium (CamuP) e Certificado (CamuC)	59

Índice de Tabelas

Tabela 1 – Concentrações de vários elementos minerais dos diferentes tipos de macas. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão, except o K que é expresso em %; n=3.	32
Tabela 2 – Teor de arsénio total e arsénio inorgânico presente nas diferentes macas expresso em μg , considerando uma razão de 0,7 de As inorgânico em relação ao As orgânico.....	35
Tabela 3 – Concentrações de vários elementos minerais das bagas de goji biológicas (Gb) e não biológicas (Gnb). Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão ou em %, caso do K; n=3.	38
Tabela 4 – Concentrações de vários elementos minerais do cacau. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão ou em %, caso do K; n=3.	43
Tabela 5 – Concentrações de vários elementos minerais do cacau em pó com diferentes proveniências. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão ou em %, caso do K.	45
Tabela 6 – Concentrações de vários elementos minerais da moringa com diferentes proveniências. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão, ou em %, caso do Cl, K e do Ca; n=3.	49
Tabela 7 – Comparação das concentrações de vários elementos na moringa com diferentes proveniências. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão, ou em %, caso do Cl, K e do Ca.....	50
Tabela 8 – Concentrações de vários elementos minerais da proteína de cânhamo com diferentes proveniências. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão ou em %, caso do K; n=3.	54
Tabela 9 – Concentrações de vários elementos minerais da ashwagandha biológica e não biológica. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão ou em % (K e Ca); n=3.	57
Tabela 10 – Concentrações de vários elementos minerais do camu camu premium e certificado. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão ou em % (K); n=3.	61

Lista de Siglas e Abreviaturas

Ab- Ashwagandha Biológica

Anb- Ashwagandha Não Biológica

ASAE- Autoridade de Segurança Alimentar e Económica

C- Proteína de Cânhamo Genérica

Camuc- Camu Camu Certificado

Camup- Camu Camu Premium

CCHN- Proteína de Cânhamo da China

CL- Proteína de Cânhamo Lituânia

Cpa- Cacau em Pasta

Cpe- Cacau em Pepitas

Cpo- Cacau em Pó

DDR- Doses Diárias Recomendadas

DDRF- Dose Diária Recomendada Pelo Fornecedor

DGAV- Direção Geral de Alimentação e Veterinária

DHHS- Departamento de Saúde e Serviços Humanos

EDXRF- Espectrometria de fluorescência de raios X por dispersão de energia

EFSA- Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos

Gb- Bagas de Gogi Biológicas

Gnb- Bagas de Gogi Não Biológicas

IARC- Agência Internacional de Pesquisa Sobre o Cancro

MA- Maca Amarela em Pó

ME- Moringa do Egito

MM- Moringa de Moçambique

MN- Maca Negra

MV- Maca Vermelha

MX- Maca Xpresso

CCHN- Proteína de Cânhamo da China

CL- Proteína de Cânhamo Lituânia

EDP- Exposição Diária Permitida

VRN- Valor de Referência de Nutrientes

Resumo

A venda de suplementos alimentares tem sido crescente nas últimas décadas, apesar de muitas vezes serem usados sem prescrição, aconselhamento adequado ou qualquer consciência do seu risco para a saúde pública. O presente estudo teve como objetivo analisar a composição mineral de 18 amostras de suplementos alimentares na forma de pó desidratado que são comercializados em Portugal. Neste estudo, utilizou-se a espectrometria de fluorescência de Raios-X por dispersão de energia (EDXRF) para a determinação rápida e não destrutiva de macro e microelementos dominantes e/ou contaminantes em suplementos alimentares. Observou-se que os minerais presentes na maioria dos suplementos alimentares não excedem a dose diária recomendada ou valor de referência de nutrientes, contudo o Cr presente na proteína de cânhamo excedeu a dose diária recomendada. Foi igualmente observado contaminações por As em muitas amostras (maca negra, maca xpresso, cacau em pepitas, moringa do Egito e proteínas de cânhamo) e Pb (bagas de gogi biológicas e não biológicas e no cacau em pasta). Dada a ausência de qualquer indicação nos rótulos dos suplementos estudados, foram analisados estas implicações para o risco de saúde pública.

Palavras-Chave: Composição mineral, EDXRF, Saúde pública, Suplementos alimentares.

Summary

The sale of dietary supplements has been increasing in the last decades, although they are often used without prescription, adequate advice or any awareness of their public health risk. The present study had as objective to analyse the mineral composition of 18 samples of food supplements in the form of dehydrated powder that are commercialized in Portugal. In this study, energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry (EDXRF) was used for the fast and non-destructive determination of dominant macro and microelements and / or contaminants in dietary supplements. It was observed that the minerals present in most dietary supplements do not exceed the recommended daily dose or nutrient reference value, however Cr present in hemp protein exceeded the recommended daily dose. Contaminations by As in many samples (black maca, espresso maca, cocoa pips, Egyptian moringa and hemp proteins) and Pb (biological and non-biological gogi berries and paste cocoa) were also observed. Given the absence of any indication on the labels of the supplements studied, these implications were analysed for public health risk.

Key Words: Mineral composition, EDXRF, Public health, Dietary supplements.

1 Introdução

O organismo humano, através de um regime alimentar adequado e variado, em condições normais, consegue obter todos os nutrientes necessários nas quantidades estabelecidas e recomendadas para um estado de equilíbrio, bom desenvolvimento e consequentemente à manutenção de um bom estado de saúde. A conservação dos níveis ótimos de nutrientes é fundamental para a manutenção do equilíbrio de certos parâmetros biológicos e para a manutenção do metabolismo humano, ou seja, são essenciais à vida (Marzzoco e Torres, 1999).

Em determinados momentos da vida, seja devido ao estilo de vida ou outros fatores, o organismo pode não receber as quantidades de nutrientes necessárias, estabelecidas e recomendadas para o bom funcionamento do organismo. Assim sendo, é de elevada importância a suplementação para completar possíveis défices de nutrientes, permitindo que o organismo mantenha as suas funções normais (Directiva 2002/46/CE).

Segundo o Decreto-Lei n.º 136/2003 de 28 de Junho, “*os suplementos alimentares são géneros alimentícios que se destinam a complementar e/ou suplementar o regime alimentar normal e que constituem fontes concentradas de determinadas substâncias nutrientes ou outras, com efeito nutricional ou fisiológico, estemes ou combinados, comercializados em forma doseada, tais como cápsulas, pastilhas, comprimidos, pílulas e outras formas semelhantes, saquetas de pó, ampolas de líquido, frascos com conta-gotas e outras formas similares de líquidos ou pós que se destinam a ser tomados em unidades medidas de quantidade reduzida*”.

A venda mundial de suplementos alimentares cresceu quase 9% em 2010, alcançando 19 biliões de dólares. O mercado foi ainda maior em 2011, as vendas aumentaram 14%, movimentando 21,4 biliões de dólares. O sector beneficiou de uma taxa de crescimento anual composta de mais de 10% desde o ano 2000 até 2012 (Lane, 2012). Em 2016 o mercado dos suplementos contabilizou 49.1 biliões de dólares, e é expectável que alcance os 86.7 biliões até 2022, aumentando a uma taxa

de crescimento anual composta de aproximadamente 10% de 2016 até 2022 (<https://www.reuters.com/brandfeatures/venture-capital/article?id=5660>).

Apesar de os suplementos alimentares serem na maioria das vezes vistos como produtos naturais, estes não estão isentos de riscos. A ingestão de suplementos alimentares podem proporcionar inúmeros benefícios ao consumidor, contudo o seu uso indiscriminado e excessivo pode ter efeitos adversos (Fugh-Berman e Cott, 1999).

Muitas pessoas que tomam suplementos alimentares acreditam na ideia de que “quanto mais melhor”, sem considerar cuidadosamente os estudos a favor ou contra as suas escolhas. Num cenário positivo, podem só estar a desperdiçar dinheiro sem qualquer benefício acrescido. Na pior das hipóteses, podem estar a colocar em risco a sua saúde (Willett et al., 2013). Por exemplo, a suplementação alimentar excessiva de cobre pode resultar em anemia (Ramirez-Cardenas et al., 2005); o magnésio e o fósforo em excesso podem causar diarreias; o ferro pode causar obstipação, náusea, vômito e redução da absorção de zinco; o zinco pode causar náuseas e vômitos e compromete a absorção de cobre; o selénio pode causar cabelos e unhas quebradiças, neuropatias periféricas e distúrbios gastrointestinais (Food Standards Agency, 2003). Num estudo realizado durante 2 semanas com 60 mulheres adultas saudáveis (aleatoriamente distribuídas em 4 grupos), ingerindo em média 1,64 L/dia de água potável contendo 0, 1, 3 ou 5mg de Cu/L sob a forma de sulfato de cobre, observou-se que 21 pacientes relataram distúrbios gastrointestinais, 9 apresentaram diarreia (alguns com dor abdominal e vômitos) e 12 pacientes apresentaram dor abdominal, náusea ou vômito, sendo que um terço dos 60 indivíduos apresentaram diarreia leve durante o estudo. Uma concentração de cobre de 3 mg/L ou superior foi associada ao aumento da incidência de náuseas, vômitos ou dor abdominal (Pizarro et al., 1999). Quanto ao excesso de magnésio, diarreia e outros efeitos gastrointestinais foram relatados num estudo em que a dose administrada aos pacientes foi de 470 mg/dia sob a forma de óxido de magnésio durante 60 dias (Marken et al., 1989). Um estudo sobre a suplementação com fósforo foi realizado, sendo que este foi administrado via oral sob a forma de fosfato. Problemas gastrointestinais foram observados nos

pacientes que receberam doses de 750 mg/dia, 1500 mg/dia e 2250 mg/dia (Brixen et al., 1992). A suplementação de ferro com doses de 100-200 mg/dia está associado a náuseas e vômitos (Reddaiah et al. 1989). Num estudo realizado com 20 pacientes do sexo feminino e 21 do sexo masculino a quem foram administrados 150 mg/dia de zinco sob a forma de sulfato durante 6 semanas, observaram-se problemas gastrointestinais, levando a 6 pacientes do sexo feminino desistirem do estudo (Samman e Roberts, 1988). Um estudo demonstrou que a ingestão de 0,91 mg/dia de selénio pode ser tóxica. Os indicadores mais sensíveis de toxicidade por selénio são mudanças no cabelo e unhas (Yang et al. 1989).

No que diz respeito à legislação dos suplementos alimentares, existe uma tentativa de harmonização em todos os estados membros da União Europeia, faltando ainda um longo caminho a ser percorrido. Os objetivos da harmonização legislativa são a proteção dos consumidores contra potenciais riscos à saúde e evitar que seja fornecida informação enganosa aos consumidores. De um modo genérico, podemos afirmar que a lei europeia assenta essencialmente sobre a segurança dos produtos (Coppens e Pettman, 2006). Deste modo, a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA), tem um papel importante no controle de qualidade, uma vez que presta aconselhamento científico independente à Comissão Europeia e aos países da UE na fase de elaboração da legislação e sempre que os responsáveis políticos se confrontam com situações de alerta sanitário. A Comissão aplica o princípio da precaução, ou seja, intervém de imediato, mesmo quando só existe perigo potencial (União Europeia, 2018).

Em Portugal, para além da EFSA, o controle de qualidade passa ainda por mais duas entidades. Segundo o Artigo 3.º do Decreto-Lei n.º 118/2015, a Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), enquanto autoridade competente, é responsável pela definição, execução e avaliação das políticas dos suplementos. A fiscalização dos mesmos compete à Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE), garantindo que todas as normas legislativas em vigor são cumpridas, sem prejuízo das competências atribuídas por lei a outras entidades, tal como descrito no Artigo 10.º do Decreto-Lei n.º 118/2015.

Apesar do rigoroso controlo de qualidade existente na Europa, existe preocupação no que diz respeito à presença de contaminantes. Metais pesados como o chumbo (Pb), mercúrio (Hg), cádmio (Cd), e arsénio (As) são contaminantes tóxicos, responsáveis por vários efeitos prejudiciais no organismo humano mesmo em pequenas quantidades (World Health Organization, 1996). O chumbo é conhecido por induzir tumores renais, reduzir o desenvolvimento cognitivo, aumentar a pressão arterial e doenças cardiovasculares em adultos. O cérebro humano é o mais afetado pela ingestão de chumbo (Garcia e Kauffman, 2007). A exposição ao mercúrio pode causar distúrbios neurológicos, incluindo convulsões e até a morte dependendo obviamente do tempo de exposição e da dose (Garcia, 2007). O consumo excessivo de cádmio afeta principalmente o rim e em menor medida o sistema reprodutivo (Garcia, 2007), enquanto o arsénio é conhecido por causar cancro principalmente da bexiga (Kitchin e Conolly, 2010), comprometimento do sistema reprodutivo (Rahman et al., 2010) e aterosclerose (Hsieh et al., 2011). No entanto os efeitos nocivos dependem de vários fatores, nomeadamente da dose absorvida, idade, sexo, dieta, estilo de vida, estado de saúde, via de exposição e duração da exposição (Monisha et al., 2014). A Agência Europeia do Medicamento estabeleceu que o limite de metais pesados definido pela exposição diária permitida (*Permitted Daily Exposure*) de medicamentos e suplementos alimentares são: Pb 5 µg/dia; Hg 15 µg/dia; Cd 5 µg/dia e As 15 µg/dia.

Muitas técnicas analíticas foram desenvolvidas para determinar a concentração de diversos minerais, incluindo metais pesados desde a espectrometria de absorção atómica até à ativação neutrónica. Melhores limites de deteção e mais elementos têm sido obtidos usando tubos de raios-X como fontes de excitação, em vez de fontes de radionuclídeos. Com o *software* moderno, é possível produzir espectros limpos com intensidades de pico líquidos e correções precisas para efeitos matriciais entre elementos (Al-Omari, 2011). Um protocolo proposto está definido para reconhecer a recente técnica de EDXRF (Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia, usando tubos de raios X como fonte de excitação) se as amostras tiverem concentrações de metais tóxicos superiores a 10 mg/kg (Palmer et al., 2009).

A maioria das pessoas em Portugal, tal como na Europa e no resto do mundo estão a ficar mais conscientes no que diz respeito à saúde, sendo que os suplementos alimentares tornaram-se uma parte vital da sua dieta diária, o que levou a uma crescente procura de suplementos alimentares. Apesar dos rigorosos controlos de qualidade ainda existe preocupação no que diz respeito à presença de contaminantes. Assim o objetivo do presente estudo é avaliar a concentração de minerais e a contaminação por metais pesados em suplementos alimentares disponíveis no mercado português, utilizando a técnica de fluorescência de raios-X, o que pode servir de alerta para as autoridades competentes de forma a agirem em conformidade e evitarem possíveis riscos para a saúde pública.

2 Breve Caracterização dos Suplementos

2.1 Cacau (*Theobroma cacao* L.)

O cacau é o fruto maduro do cacaueiro, pertence à família Malvaceae, que cresce nas regiões tropicais de África e da América do Sul (Ibrić e Cavar, 2014). Numerosos estudos sugerem vários efeitos benéficos para a saúde associados ao consumo de produtos de cacau (Tomaru et al., 2007). É um dos alimentos mais nutritivos do mundo e tem demonstrado proteger o corpo do impacto dos radicais livres, reduz o *stress* e a depressão, protege contra doenças cardíacas e muitos tipos de cancro (Latif, 2013). Este efeito promotor de saúde é geralmente atribuído à presença de polifenóis no cacau. As principais classes de compostos polifenólicos encontrados no cacau são fenóis simples, benzoquinonas, ácidos fenólicos, flavonoides, etc (Hii et al., 2009). São também uma boa fonte de nutrientes (proteínas, lípidos, hidratos de carbono, vitaminas e minerais) (Robert, 2009).



Figura 1 – Cacau em Pó Embalado

2.2 Maca (*Lepidium meyenii* Walpers)

A Maca pertence à família Brassicaceae sendo uma planta tradicional do Peru. Cresce exclusivamente em altitudes superiores a 4000 m, sendo cultivada há mais de 2000 anos atrás (Gonzales et al., 2009). O tubérculo, a parte comestível da planta, é usado nos Andes há séculos para fins nutricionais e medicinais (Gonzales et al., 2001).

O elevado valor nutricional da Maca faz com que esta seja um alimento de grande potencial, não só pelo teor de proteína e hidratos de carbono, mas também pelo teor de minerais (Dini et al. 1994). O Ministério da Saúde do Peru realizou um estudo com tubérculos, raízes e derivados consumidos no país constatando que a Maca está entre os alimentos com maior concentração de cálcio, fósforo e ferro (<http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf>).

Estudos epidemiológicos demonstram que o consumo de vegetais da família das Brassicaceae está associado a um risco reduzido de cancro da próstata. De entre os vegetais da família das Brassicaceae, antiga família das Cruciferae, estão incluídos os brócolos, couve, mostarda e membros do género *Lepidium*, onde se inclui a Maca (Kristal et al., 2002; Martinez et al., 2004). Existem também evidências, de que a Maca pode ser eficaz na melhoria da função sexual em humanos e na pecuária (Wang et al., 2007), enquanto em ratos tem sido possível observar um aumento significativo da espermatogénese (Gonzales et al., 2001; Rubio et al., 2006).



Figura 2 – Maca em Pó Embalada

2.3 Bagas de Gogi (*Lycium barbarum* L.)

As bagas de gogi, pertencem à família das Solanaceae e são conhecidas como suplemento e medicamento na medicina tradicional chinesa. São usadas na República Popular da China e em outros países asiáticos há mais de 2000 anos (Chang e So, 2008; Potterat, 2010). As bagas tornaram-se cada vez mais populares nos países ocidentais como um produto anti-envelhecimento e antioxidante (Ulbricht et al., 2014)

Os frutos de *L. barbarum* são de cor vermelha e sabor doce, encontram-se principalmente na província de Ningxia, República Popular da China. Essas frutas são comidas cruas ou bebidas na forma de sumo, vinho ou chá. As bagas também podem ser processadas em tinturas, pós ou comprimidos, sendo que a medicina tradicional chinesa considera que as bagas têm a capacidade de manter a função dos olhos e fortalecer a atividade do fígado, dos rins e dos pulmões (Chang e So, 2008; Potterat, 2010).



Figura 3 – Bagas de Gogi em Pó Embaladas

2.4 Moringa (*Moringa oleifera* Lam.)

A moringa pertence à família da Moringaceae sendo uma planta com valor medicinal e terapêutico extraordinário, usada para aliviar e controlar vários estados de doença (Shivani e Meenakshi, 2014).

A *Moringa oleifera*, é uma árvore indígena do subcontinente indiano. Esta é comumente usada em especiarias e óleos cosméticos, e tem várias aplicações medicinais e terapêuticas. É uma excelente fonte de componentes nutricionais e quase todas as partes da árvore contêm produtos úteis para os seres humanos. Diversos estudos têm demonstrado que a moringa e os seus componentes têm atividade de cicatrização de feridas, atividade anti-inflamatória, antioxidante, anti-microbiana, anti-diabética, anti-hipertensiva, anti-fertilidade, anti-tumoral, hepatoprotetora, propriedades anti-ulcerosas, entre outras (Shivani e Meenakshi, 2014).



Figura 4 – Moringa em Pó e Folhas de Moringa

2.5 Ashwagandha (*Withania somnifera* (L.) Dunal)

A ashwagandha também conhecida como cereja de inverno ou ginseng indiano é um arbusto pequeno lenhoso da família Solanaceae que cresce cerca de 60 cm de altura. É encontrada na África, no Mediterrâneo e na Índia. Como resultado desta ampla distribuição, existem variações morfológicas e químicas consideráveis em termos de espécies locais. No entanto, os alcalóides primários de ambas as espécies selvagens e cultivadas parecem ser os mesmos. As raízes são a porção principal da planta usada terapeuticamente. A fruta vermelha brilhante é colhida no final do outono e as sementes são secas para o plantio na primavera seguinte (Monograph, 2004).

Withania somnifera tem sido uma erva importante nos sistemas médicos ayurvédicos e indígenas por mais de 3000 anos. Historicamente, tem sido usada como afrodisíaco, tónico hepático, agente anti-inflamatório, anti-envelhecimento e, mais recentemente, no tratamento da bronquite, asma, úlceras, emagrecimento, insónia e demência (Monograph, 2004).

Ensaio clínico e pesquisas com animais suportam o uso de ashwagandha para ansiedade, distúrbios cognitivos e neurológicos, inflamação e doença de Parkinson. As propriedades quimiopreventivas de ashwagandha torna-a potencialmente útil para pacientes submetidos a radiação e quimioterapia. Esta é também usada terapeuticamente como adaptogénica para pacientes com esgotamento nervoso,

insónia e debilidade devido ao stress e como estimulante imunológico em pacientes com baixa contagem de leucócitos (Monograph, 2004).



Figura 5 – Ashwaganda em Pó Embalada

2.6 Proteína de Cânhamo (*Cannabis sativa* L.)

Existe recentemente, a consciência por parte da indústria alimentar no que diz respeito ao desenvolvimento de novos produtos com atividades preventivas para a saúde, desenvolvendo alimentos funcionais naturais de matérias vegetais devido à sua alta taxa de biodegradabilidade, resultando em pouca ou nenhuma toxicidade. Um exemplo desses materiais vegetais é o cânhamo (*Cannabis sativa*) da família Cannabaceae, que era cultivado tradicionalmente pelo seu alto teor em fibras. No entanto, a produção de fibras a partir do cânhamo deixa para trás a semente, que é uma fonte rica em óleo de alta qualidade (30%) e proteínas (25%) (Radocaj et al., 2014). Assim, os recentes esforços na comercialização do cânhamo focaram-se na semente pois o óleo e as proteínas de alta qualidade podem servir como ingredientes para a formulação de alimentos funcionais.

O aumento da utilização das sementes de cânhamo para a produção do óleo comestível levou a abundantes quantidades de subprodutos ricos em proteína que são convertidos em diversas formas de proteínas em pó. Os produtos atuais comercializados de proteína de semente de cânhamo apresentam-se sob a forma de concentrados de proteína em pó contendo até 70% de proteína e com níveis elevados de fibra (Lu et al., 2010).



Figura 6 – Proteína de Cânhamo em Pó Embalada

2.7 Camu Camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh)

Camu camu é uma espécie frutífera nativa da Amazônia. Ocorre espontaneamente nas margens dos rios e margens dos lagos, é encontrado em maior concentração e variedade na Amazônia peruana, estendendo-se à Venezuela, Colômbia e Brasil (Yuyama, 2011).

O arbusto de camu-camu pertence à família Myrtaceae e a sua fruta é arredondada, lisa e brilhante, varia de vermelho escuro a roxo escuro e contém de 1 a 4 sementes, quando maduras. Esta fruta semelhante à cereja desempenha um papel importante na nutrição humana, uma vez que é uma das principais fontes de substâncias bioativas,

destacando-se o teor de ácido ascórbico, apresentando maiores concentrações que a maioria dos citrinos (Maeda et al. 2006).



Figura 7 – Camu Camu em Pó Embalada

3 Materiais e Métodos

3.1 Descrição e Preparação das Amostras

Neste estudo, foram examinados diferentes suplementos alimentares populares e de venda livre em Portugal, nomeadamente:

- Maca amarela em pó; Marca: Biosamara; Lote: 24I707;
- Maca amarela torrada em pó (Xpresso); Marca: Biosamara; Lote: N.O.1587;
- Maca vermelha em pó; Marca: Biosamara; Lote: 24E707;
- Maca negra em pó; Marca: Biosamara; Lote: N.O.0388;
- Cacau em pó; Marca: Biosamara; Lote: 040717.1;
- Cacau em pasta moeda; Marca: Biosamara; Lote: 16AM705;
- Cacau pepita; Marca: Biosamara; Lote: N.O.3895;
- Bagas de gogi biológicas; Marca: Biosamara; Lote: B18836.3;
- Bagas de gogi não biológicas; Marca: Biosamara; Lote: DH15058;
- Moringa de Moçambique; Marca: Biosamara; Lote: NAT-01; Val:30/10/19;
- Moringa do Egito; Marca: Biosamara; Lote: MBD0111730; Val:31/01/20;
- Proteína de cânhamo genérica; Marca: Biosamara; Lote: 15968; Val: 31/07/19;
- Proteína de cânhamo da China; Marca: Biosamara; Lote: NO-OHP20160616;
- Proteína de cânhamo da Lituânia; Marca: Biosamara; Lote: B038P1;
- Ashwagandha Biológica; Marca: Biosamara; Lote: BOH201-5;
- Ashwagandha Não Biológica; Marca: Biosamara; Lote: S251701FGAG02;
- Camu Camu Premium; Marca: Biosamara; Lote: N.O. 3889;
- Camu Camu Certificado; Marca: Biosamara; Lote: WL01B228;

Em relação ao conteúdo nutricional dos suplementos analisados, não foi possível obter informação dos fornecedores em relação aos elementos minerais. Inclusivamente o fornecedor Biosamara expõe na sua loja online a seguinte nota: “as informações e descrições de produtos e suas propriedades contidas neste site não foram submetidas, avaliadas ou controladas pelas autoridades médicas ou

alimentares / EFSA (autoridade Europeia de segurança alimentar). De acordo com a lei em vigor os produtos naturais e alimentos ainda não estão previstos na cura, diagnóstico e prevenção de doenças (...)”.

Algumas amostras analisadas encontravam-se desidratadas e em pó, em sacos plásticos próprios, selados para prevenir contaminações. Outras amostras foram fornecidas em cápsulas cuja proteção foi removida. Para análise, os pós foram pressionados a 10 toneladas e transformados em pastilhas de 2 cm de diâmetro e 1 mm de espessura, sem quaisquer tratamentos químicos. Efetuou-se um mínimo de 3 pastilhas por cada amostra com o objetivo de se poder inferir incertezas estatísticas relativas à homogeneização do processo de moagem. Cada pastilha que pesa aproximadamente 0,3 mg foi colocada num filme de Mylar e inserida no respetivo slide, tal como mostra a figura 8. O slide foi então colocado diretamente em frente do feixe de raios-X para determinação elementar. Três análises foram efetuadas por cada amostra, uma em cada pastilha. Para cada espectro o tempo de aquisição foi de 1000s. Os dados foram tratados estatisticamente por um programa estatístico (SPSS Statistics 18) através de uma análise de variância (ANOVA) e pelo F-Teste. Um valor de $P \leq 0.05$ foi considerado significativo.

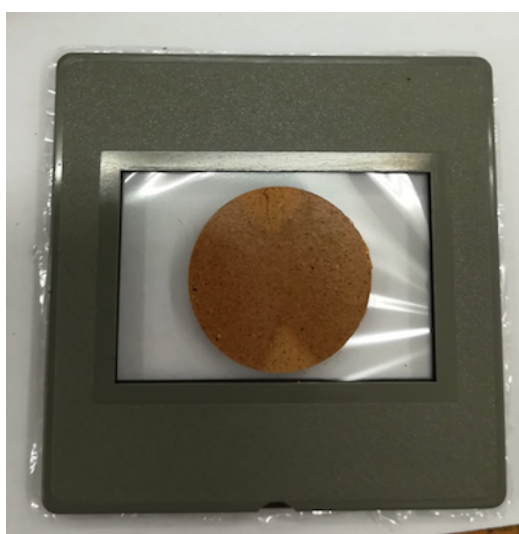


Figura 8 – Pastilha colocado no filme de Mylar e inserido no respetivo slide

3.2 Configuração das Análises

Para a análise e quantificação das amostras preparadas previamente utilizou-se um espectrómetro de bancada de fluorescência dispersivo em energia, equipado com um tubo de raios-X comercial (PW 1140; 100KV, 80mA) emparelhado com um alvo secundário feito de molibdénio. Esta configuração EDXRF emprega um detetor de Si (Li) com uma área ativa de 30 mm² e uma janela de berílio de 8 µm para medir a radiação característica emitida pelos elementos presentes nas amostras. Com o sistema de aquisição de um cartão Nucleus PCA, obtém-se uma resolução de energia de 135 eV a 5,9 keV. A fonte de raios-X foi operada a 50 kV e 20 mA.

A configuração triaxial do espectrómetro utilizado induz uma forte supressão da radiação de fundo proveniente do processo de Bremsstrahlung a que os eletrões do tubo de raios-X estão sujeitos ao interagir com o ânodo (Guerra et al., 2013). Com essa configuração, obtemos uma fonte quase monocromática de radiação, cuja energia corresponde à energia das linhas de fluorescência K_α e K_β de molibdénio, de 17,4 keV e 19,6 keV, respetivamente. Os limites de deteção nesta geometria são, portanto, muito menores em comparação com as geometrias planares comuns, que permitem não apenas a determinação precisa de elementos dominantes, mas também a identificação e até a quantificação dos elementos traços presentes na matriz do material.

3.3 Validação do Método Analítico

A quantificação absoluta dos vários elementos foi realizada com o método dos parâmetros fundamentais. Este método permite obter a concentração relativa de cada elemento presente na amostra com a ajuda de parâmetros atómicos de interação de radiação com a matéria, como por exemplo os rendimentos de fluorescência ou secções eficazes de absorção. Validou-se o presente método através da comparação das concentrações obtidas com concentrações conhecidas presentes em materiais de referência padrão de matrizes de tipo orgânico. Entre estes materiais de referência estão as folhas de pomar (NIST-SRM1571), folhas de Choupo (GBW07604) e ramos de arbusto (GBW07603). Estes materiais contêm matrizes orgânicas leves com várias

concentrações dos elementos de interesse, o que permite a avaliação do presente método para diferentes regimes de concentração. A preparação de pastilhas dos materiais de referência padrão seguiu o mesmo procedimento que as outras amostras testadas. No geral, o método de parâmetros fundamentais é capaz de obter as mesmas concentrações elementares que os valores certificados, dentro do nível de incerteza. No caso, a incerteza corresponde a limites de confiança de 68% isto é, a um desvio padrão.

3.4 Limite de Detecção

Em XRF, o limite de detecção/quantificação, corresponde à fracção mássica mínima, ou concentração, que é possível de detectar/quantificar numa amostra. Este é obtido a partir de uma expressão matemática que relaciona o número de contagens de uma determinada risca de raios-X e o fundo proveniente de ruído nessa mesma região de energia. Esta relação contempla ainda a concentração no analito, o que significa que para se poder medir o limite de detecção de um determinado espectrómetro precisa-se de recorrer a amostras com concentrações elementares certificadas. Estes valores dependem substancialmente da matriz em que os elementos traço estão inseridos, pelo que não existem valores tabelados para esta técnica pois dependem não só das características do espectrómetro bem como da amostra a analisar.

Nos sistemas de EDXRF, a detecção de elementos leves é bastante complicada, pois os rendimentos de fluorescência, que correspondem à probabilidade que um átomo com um lacuna numa camada interna transite de estado através da emissão de um fóton, são extremamente baixos para átomos com número atómico menor do que 12 ou 13. Para além disso, a radiação X emitida por estes elementos é de muito baixa energia o que significa que a mesma será facilmente absorvida pelo ar e/ou a janela do detector.

O limite de quantificação nesta técnica é usualmente obtido como três vezes o limite de detecção, e para a maior parte dos metais como o Cu, Ni, Zn e ainda o As é de

cerca de 3 $\mu\text{g/g}$, enquanto que para o Fe é de 6 $\mu\text{g/g}$ e para o Pb é de 9 $\mu\text{g/g}$ (Pessanha et al., 2009).

Saliente-se que valores medidos que sejam muito próximos destes limites devem ser analisados com especial atenção, uma vez que pode haver interferência cruzada dos acessórios de chumbo utilizados para o isolamento e proteção contra as emissões de raios-X nas instalações do equipamento.

4 Resultados e Discussão

4.1 Caracterização das Amostras

Dezoito alimentos funcionais e/ou suplementos alimentares que podem ser adquiridos em Portugal em loja própria ou via internet, foram oferecidos por um fornecedor de uma conhecida marca que distribui este tipo de produtos. As amostras foram agrupadas e codificadas consoante o suplemento/alimento funcional em questão. As macas foram codificadas e agrupadas consoante a sua variedade, maca negra (MN), maca vermelha (MV), maca amarela (MA), maca xpresso (MX). Quanto às bagas de gogi, estas foram diferenciadas em biológicas (Gb) e não biológicas (Gnb). O cacau foi agrupado e codificado segundo a sua estrutura, cacau em pasta (CPa), pepitas (CPe) ou em pó (CPo). A moringa por ter diferentes origens, foi agrupada consoante o país de produção, Moçambique (MM) e Egito (ME). A proteína de cânhamo genérica (C), da China (CCHN) e da Lituânia (CL). A Ashwagandha por biológica (Ab) e não biológica (Anb). Por último, o camu camu foi agrupado por premium (CamuP) e certificado (CamuC).

4.2 Composição Mineral da Maca

Os elementos mais abundantes presentes nas 4 amostras foram de uma maneira geral o K, Ca e Fe. Na figura 9 está representada a concentração dos diferentes minerais. Com a observação do gráfico é possível perceber visualmente as diferenças de concentração entre as amostras, sendo possível observar ainda as barras de incerteza, ou seja, o desvio padrão. No gráfico, apesar de se comparar as concentrações dos vários elementos no produto analisado, têm que se considerar as doses de consumo diárias recomendadas pelos fornecedores para os suplementos na forma de pó desidratados ou cápsula de modo a avaliar a dose real dos vários minerais.

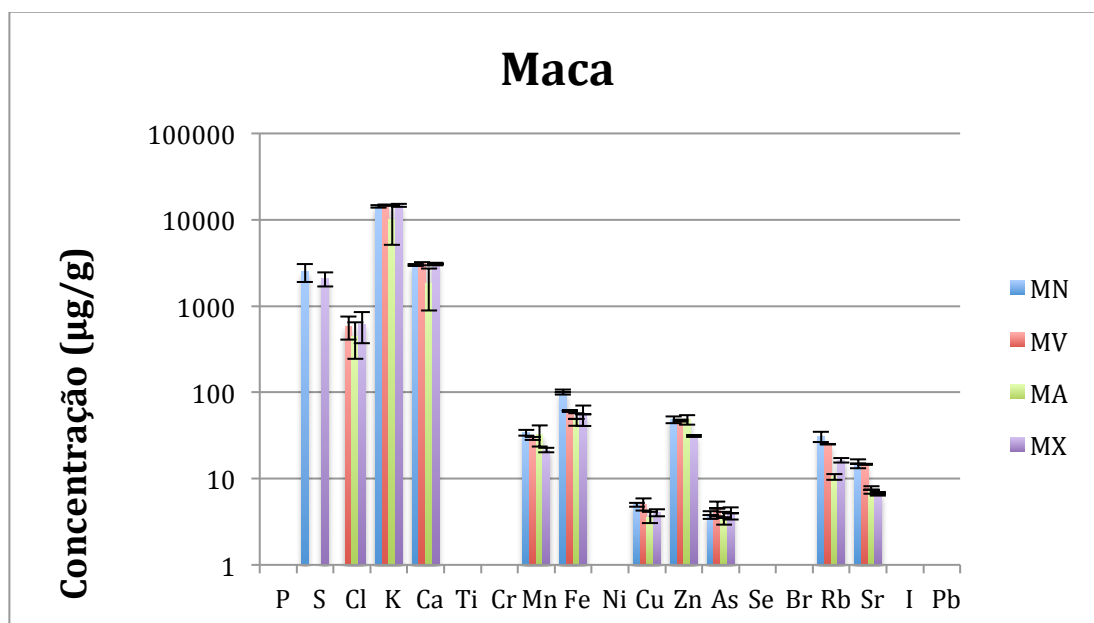


Figura 9 – Gráfico Representativo das Concentrações Minerais de Quatro Amostras de Maca; MN=maca negra; MV=maca vermelha; MA=maca amarela; MX=maca xpresso

A Dose Diária Recomendada pelo Fornecedor (DDRF) é de 5g para a MN; 3g para a MV; 3g para a MA e 12g para a MX. Tendo em conta a DDRF, os elementos mais abundantes presentes nas 4 amostras (K, Ca e Fe) não ultrapassam as Doses Diárias Recomendadas (DDR) pelo Decreto-Lei nº54/2010 de 2000 mg/dia; 800 mg/dia e 14 mg/dia, respetivamente.

O enxofre apenas foi observado na maca negra e na xpresso com concentrações de 2483,1 µg/g e 2073,6 µg/g respetivamente (Tabela 1). Segundo o Ministério da Saúde do Peru, a maca está entre os alimentos com maior concentração de Ca, Fe e P (<http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf>). De facto, as macas analisadas neste trabalho (figura 9 e tabela 1) contêm concentrações relevantes de Ca e Fe, contudo o P não foi detetado, o que pode estar relacionado com o elevado limite de deteção do espectrómetro para o P que será certamente superior à concentração considerada adequada para tecidos vegetais que está fixada em 2000 µg/g em peso seco (Raven et al., 2005).

Tabela 1 – Concentrações de vários elementos minerais dos diferentes tipos de macas. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão, except o K que é expresso em %; $n=3$.

	MN	MV	MA	MX
S	$2483 \pm 589a$	—	—	$2074 \pm 395a$
Cl	—	$579 \pm 173ab$	$444 \pm 101b$	$608 \pm 138a$
K	$1,43 \pm 0,046a$	$1,48 \pm 0,030a$	$0,99 \pm 0,048b$	$1,47 \pm 0,060a$
Ca	$2984 \pm 89,5a$	$3083 \pm 118a$	$1802 \pm 91,4b$	$3078 \pm 120a$
Mn	$34,1 \pm 2,9a$	$29,2 \pm 1,2a$	$32,5 \pm 9,0a$	$21,4 \pm 1,3b$
Fe	$100,5 \pm 6,4a$	$60,9 \pm 1,8b$	$49,1 \pm 8,2c$	$55,7 \pm 15,0b$
Cu	$5,0 \pm 0,3a$	$5,1 \pm 0,8a$	$3,6 \pm 0,5b$	$4,0 \pm 0,4ab$
Zn	$48,3 \pm 4,5a$	$46,9 \pm 1,3a$	$48,1 \pm 6,0a$	$31,3 \pm 0,9b$
As	$3,8 \pm 0,4a$	$4,5 \pm 0,9a$	$3,5 \pm 0,6a$	$4,0 \pm 0,6a$
Rb	$30,5 \pm 4,2a$	$25,1 \pm 0,3a$	$10,5 \pm 0,8c$	$16,3 \pm 1,0b$
Sr	$14,9 \pm 1,7a$	$14,7 \pm 0,2a$	$7,4 \pm 0,7b$	$6,7 \pm 0,3b$

Concentrações médias na mesma linha, seguidas de uma letra não-comum são significativamente diferentes para um nível de significância de 95%. Os elementos não referidos na Tabela, a existir, estão abaixo do limite de deteção.

Yellesca-Gutierrez (1994) refere que a maca vermelha tem uma concentração elevada de K e uma concentração reduzida de Fe quando comparada à maca negra, enquanto a maca amarela apresenta níveis intermédios para esses elementos, o que está parcialmente de acordo com o observado no presente estudo em relação ao Fe no caso da MV, embora em relação ao K as concentrações observadas nas MN e MV sejam praticamente idênticas (figura 9 e a tabela 1).

Estudos elaborados por Li et al., (2017) demonstraram que a maca amarela apresenta concentrações de Cu, Fe e K claramente superiores às observadas neste estudo, embora os teores de Mn, e Zn por nós detetados sejam claramente superiores. De

facto, a concentração de Mn foi cerca de 3x superior à observada por Li et al., (2017), 32,5 µg/g vs 11,2 µg/g, enquanto a concentração de Zn foi de 48,1 µg/g comparativamente ao valor de 30,7 µg/g observado por Li et al., (*op. cit.*). Em relação ao Ca, a concentração observada por Li et al., (2017) era de 1.37% valor muito elevado quando comparado com a concentração por nós obtida de 1802 µg/g. Zhang et al., (2015), analisaram o conteúdo em elementos minerais em macas com diferentes origens (China e Peru) tendo observado que os teores de Cu nas amostras da China que variavam entre 2,5-31 µg/g (numa base de peso seco) eram superiores às amostras do Peru (<2,1 µg/g). Quanto aos teores de Zn na maca Chinesa variavam entre 10-39 µg/g, enquanto na maca Peruana variavam entre 27-39 µg/g. No nosso caso, o teor de Cu nas macas variou entre 3,6-5,0 µg/g enquanto o teor de Zn variou entre 31,3-48,3 µg/g, concentrações algo semelhantes às encontradas por Zhang et al., (2015) para a maca Peruana. De qualquer modo, não é possível chegar a uma conclusão quanto à origem das macas por nós analisadas com base nos teores de alguns elementos.

O Rb e o Sr foram igualmente detetados em todas as macas embora ainda não existam valores de referência para a DDR. O Rb não é considerado um elemento essencial para qualquer organismo, embora possa interferir com a absorção de K pelas células animais devido a terem uma estrutura eletrónica semelhante. O corpo humano tende a tratar os iões de Rb como se fossem iões de K e, portanto, concentra o Rb no fluido intracelular do corpo. Embora seja possível uma substituição parcial do K pelo Rb, um estudo com ratos mostrou que quando mais de 50% do K no tecido muscular é substituído pelo Rb, os ratos morrem (Canavese et al., 2001).

O Sr desempenha um papel vital na saúde dos ossos, funcionando a par do Ca para aumentar a densidade óssea, ao mesmo tempo que diminui a taxa de perda óssea. O Sr reforça a formação óssea, regula a decomposição óssea, melhora a resistência à fratura e pode prevenir a dor óssea. Um estudo realizado na Finlândia demonstrou que o conteúdo de Sr dos alimentos tem uma correlação altamente significativa com o conteúdo de Ca. Nenhum problema foi evidente no que diz respeito ao Sr na dieta Finlandesa (Varo et al., 1982).

Se o consumidor seguir as diretrizes de ingestão diária recomendadas pelo fornecedor, no que diz respeito ao S, Cl, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, as DDR pelo Decreto-Lei nº54/2010 não são excedidas. Contudo, para elementos como o As e na ausência de DDR pelo Decreto-Lei anteriormente citado, usou-se o valor de 15 µg/dia correspondente à Exposição Diária Permitida (EDP), recomendado pela Agência Europeia do Medicamento (EMA, 2016).

Os níveis de As detetados nas 4 amostras não ultrapassam o valor de 4,5 µg/g, embora quando se compara a Exposição Diária Permitida tendo em consideração a DDRF, se verifique que o valor recomendado de 15 µg/dia é ultrapassado no caso da MN e na MX com 18,9 µg/dia e 47,6 µg/dia, respetivamente.

O As é um elemento que ocorre naturalmente e está homogeneamente distribuído na crosta terrestre. Sendo quimicamente classificado como um metaloide, tem as propriedades de um metal e de um não-metal, no entanto é referido frequentemente como um metal. No ambiente, o As é geralmente encontrado combinado com outros elementos como o oxigénio, cloro e enxofre. Quando o As é combinado com esses elementos, é chamado de arsénio inorgânico; quando combinado com carbono e hidrogénio é chamado de arsénio orgânico (Toxicological Profile for Arsenic, 2007).

As fontes alimentares predominantes de As são os alimentos de origem marinha, seguido do arroz, cereais, cogumelos e aves, para além da água de consumo doméstico. Embora algas, peixes e crustáceos contenham principalmente As na forma orgânica, que é muito menos prejudicial, alimentos como arroz ou cereais contêm essencialmente As inorgânico.

Ambas as formas (inorgânica e orgânica), são eliminadas do corpo através da urina. A maior parte do As inorgânico é eliminado dentro de alguns dias, contudo pode permanecer por vários meses. Quanto ao As orgânico, a maior parte dele é eliminado dentro de poucos dias. O Departamento de Saúde e Serviços Humanos dos Estados Unidos da América (EUA) determinou que o As inorgânico é conhecido por ser um carcinogénico humano, facto também reconhecido pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Cancro (IARC) (Toxicological Profile for Arsenic, 2007).

Assume-se que a proporção de As inorgânico em alimentos, excepto alimentos de origem marinha seja em média de 70% (<http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm280202.htm>).

Várias espécies da família Brassicaceae, incluindo a maca, são culturas agrícolas muito importantes em diferentes partes do mundo e também são conhecidas por serem acumuladores de metais pesados como o As (Mourato et al., 2015). Um estudo concluiu que a acumulação de As pela *Brassica rapa* (Brassicaceae) cultivada em solos contaminados com 10,1 µg/g de As foi de 3,4 µg/g (Tidwell e Ayers, 2011) o que revela uma eficácia em termos de absorção de aproximadamente 33%. Tendo em conta que a concentração encontrada nas 4 macas analisadas variou entre 3,5-4,5 µg/g, se a absorção de As for semelhante em todas as plantas da mesma família poderá existir um risco acrescido de saúde pública, especialmente nas espécies que são vulgarmente usadas na dieta humana.

Considerando a média de 70% de As inorgânico nos alimentos terrestres e as DDRF, a maca negra apresentaria então um teor de As total de 18,9 µg, sendo que 13,2 µg sob a forma de As inorgânico. A maca xpresso por sua vez apresentaria um teor de As total de 47,6 µg, sendo 33,3 µg de As inorgânico, como observado na tabela 2.

Tabela 2 – Teor de arsénio total e arsénio inorgânico presente nas diferentes macas expresso em µg, considerando uma razão de 0,7 de As inorgânico em relação ao As orgânico.

	Arsénio Total*	Arsénio Inorgânico
MN	18,9 µg	13,2 µg
MV	13,5 µg	9,5 µg
MA	10,5 µg	7,4 µg
MX	47,6 µg	33,3 µg

(*) Valor obtido seguindo as recomendações de ingestão diária do fornecedor e tendo em atenção as concentrações do elemento, por nós determinadas.

O As inorgânico tem sido reconhecido como tóxico para os humanos desde a antiguidade, e doses orais muito elevadas (acima de 60 $\mu\text{g/g}$) em água, podem resultar em morte. A ingestão de níveis inferiores de As inorgânico (0,3 a 30 $\mu\text{g/g}$) na água, pode resultar em irritação de estômago e intestinos, com sintomas como dor de estômago, náuseas, vômito e diarreia. Outros efeitos incluem diminuição de glóbulos vermelhos e brancos, que podem causar fadiga, ritmo cardíaco anormal, danos nos vasos sanguíneos, resultando em nódos negros e função nervosa prejudicada, causando sensação de “alfinetes e agulhas” na pele, mãos e pés (Toxicological Profile for Arsenic, 2007).

O efeito mais característico da exposição oral a longo prazo do As inorgânico talvez seja um padrão de alterações na pele. Estas alterações incluem manchas de pele escuras e o aparecimento de pequenos “calos” ou “verrugas” nas palmas da mão, sola do pé e tronco, e são frequentemente associados a alterações nos vasos sanguíneos da pele. É possível o desenvolvimento de cancro de pele (Toxicological Profile for Arsenic, 2007).

A reconhecida doença denominada “*Blackfoot Disease*” que assolou Taiwan no início do século XX, com particular incidência entre 1956 e 1960, era caracterizada por uma oclusão arterial progressiva principalmente dos membros inferiores, sendo a ulceração, gangrena e a amputação cirúrgica, resultado recorrente. Esta doença era devida à ingestão prolongada de água retirada de poços que se encontravam naturalmente contaminados por As, devido à geologia da região, algo comum em todo o Sudeste Asiático (Tseng, 2005).

4.3 Composição Mineral das Bagas de Goji

Na figura 10 está representado a concentração dos diferentes minerais, onde são visíveis as diferenças entre as amostras e o respetivo desvio padrão.

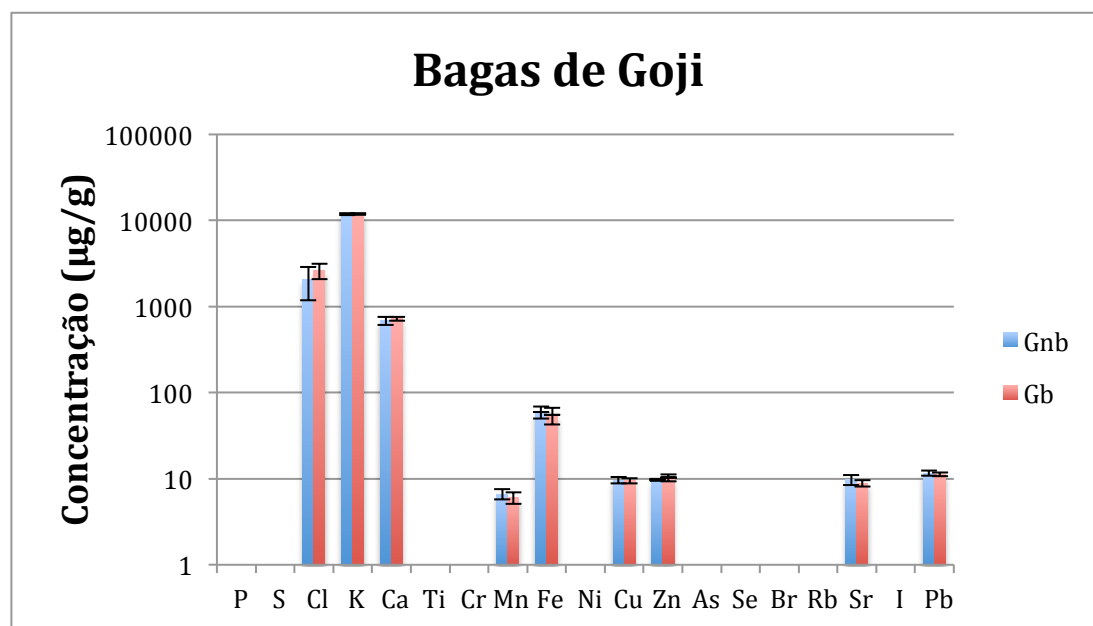


Figura 10 – Gráfico Representativo das Concentrações Minerais de Bagas de Goji Biológicas (Gb) e Não Biológicas (Gnb)

Quanto à composição mineral das bagas de goji é possível observar através do gráfico da figura 10 e da tabela 3 que as bagas de goji biológicas (Gb) apresentam maior concentração de Cl, K, Ca e Zn em relação às bagas de goji não biológicas (Gnb), embora não existam diferenças significativas para um nível de significância de 95%.

A Dose Diária Recomendada pelo Fornecedor (DDRF) é de 28 g, tanto para a Gb como para a Gnb. A concentração de Cl nas bagas biológicas é superior à das bagas não biológicas (2600 µg/g vs 2044 µg/g). Seguindo as DDRF, nem as biológicas nem as não biológicas excedem o Valor de Referência de Nutrientes (VRN) de Cl de 800 mg/dia do Decreto-Lei nº54/2010.

Tabela 3 – Concentrações de vários elementos minerais das bagas de goji biológicas (Gb) e não biológicas (Gnb). Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão ou em %, caso do K; n=3.

	Gnb	Gb
Cl	$2044 \pm 86,1a$	$2600 \pm 53,4a$
K	$1,18 \pm 0,03a$	$1,19 \pm 0,02a$
Ca	$688 \pm 76,0a$	$722 \pm 37,0a$
Mn	$6,6 \pm 0,9a$	$6,0 \pm 0,9a$
Fe	$59,6 \pm 9,6a$	$54,8 \pm 12,1a$
Cu	$9,6 \pm 0,8a$	$9,5 \pm 0,7a$
Zn	$9,7 \pm 0,3a$	$10,3 \pm 0,9a$
Sr	$9,7 \pm 1,3a$	$8,9 \pm 0,8a$
Pb	$11,6 \pm 0,8a$	$11,3 \pm 0,6a$

Concentrações médias na mesma linha, seguidas de uma letra não-comum são significativamente diferentes para um nível de significância de 95%. Os elementos não referidos na Tabela, a existir, estão abaixo do limite de deteção.

A concentração de K era praticamente idêntica em ambas as bagas com percentagens entre 1.18% e 1.19% numa base de peso seco. No caso do Ca e Zn, as bagas biológicas apresentavam concentrações superiores às não biológicas (tabela 3). Seguindo as DDRF, o consumo de bagas biológicas ou não biológicas não excede a Dose Diária Recomendada (DDR) de K, Ca e Zn do Decreto-Lei nº54/2010 de 2000 mg/dia; 600 mg/dia e 10 mg/dia, respetivamente.

Para o Mn, Fe, Cu e Sr, as concentrações foram superiores para as bagas não biológicas, apesar das diferenças entre as concentrações não serem significativamente diferentes para um nível de significância de 95%. O Mn apresentou uma concentração de $6,6 \mu\text{g/g}$ para as bagas não biológicas, enquanto as biológicas apresentaram uma concentração de $6 \mu\text{g/g}$. No caso do Fe, o caso é

semelhante, as bagas não biológicas apresentam concentração superior (59,6 $\mu\text{g/g}$ vs 54,8 $\mu\text{g/g}$). O mesmo acontece com o Cu onde a concentração das bagas não biológicas é superior às biológicas (9,6 $\mu\text{g/g}$ vs 9,5 $\mu\text{g/g}$). Quanto ao Sr, o caso é semelhante, a concentração das bagas não biológicas é superior à das biológicas (9,7 $\mu\text{g/g}$ vs 8,9 $\mu\text{g/g}$).

Seguindo as DDRF nem as biológicas nem as não biológicas excedem a dose diária recomendada (DDR) de Mn, Fe e Cu do Decreto-Lei nº54/2010 de 3 mg/dia, 14 mg/dia e 1 mg/dia respetivamente.

O Sr como referido anteriormente foi detetado tanto nas bagas biológicas como nas não biológicas embora ainda não existam valores de referência para a DDR. O Sr desempenha um papel vital na saúde dos ossos, funcionando a par do Ca para aumentar a densidade óssea, ao mesmo tempo que diminui a taxa de perda óssea. Aliás, um estudo realizado na Finlândia, demonstrou que o conteúdo de Sr dos alimentos tem uma correlação altamente significativa com o conteúdo de Ca (Varo et al., 1982).

Gogoasa et al., (2014) analisaram o conteúdo mineral de bagas de Goji provenientes da China adquiridas em 3 ervanárias diferentes. Observaram que a concentração de Fe variou entre 46-87 $\mu\text{g/g}$, o que está de acordo com as concentrações por nós observadas nas Goji biológicas e não biológicas de 54,8 $\mu\text{g/g}$ e 59,6 $\mu\text{g/g}$ respetivamente. Aliás, esta concordância estendeu-se também ao Mn.

Os teores de Zn observados quer por Gogoasa et al., (2014) que variavam entre 90-130 $\mu\text{g/g}$, quer por Kocyigit e Sanlier (2017) cuja concentração média se situava perto de 70 $\mu\text{g/g}$, eram claramente superiores à concentração média do nosso trabalho – aproximadamente 10,0 $\mu\text{g/g}$, o que poderá ser explicado pela eventual contaminação dos locais de cultivo com fertilizantes contendo Zn em conjunto com fertilizantes NPK (azoto, fósforo e potássio) (Mortvedt e Gilkes, 1993). Fertilizantes contendo Zn solúvel são também usados como *sprays* foliares em árvores de fruto e vegetais. As fontes mais comuns de Zn são o ZnSO_4 e o ZnO . Acresce, que as concentrações acima referidas estão muito acima do teor considerado adequado para tecidos vegetais que é de 20 $\mu\text{g/g}$ (Raven et al., 2005).

Quanto ao Cu, as concentrações das bagas biológicas e não biológicas eram praticamente idênticas, situando-se perto de 10 $\mu\text{g/g}$, concordante com a variação observada por Gogoasa et al., (2014) que se situava entre 6-10 $\mu\text{g/g}$.

Bagas de Gogi com origem na China apresentavam teores de Fe de 67 $\mu\text{g/g}$ (Kocyigit e Sanlier, 2017), concentração superior à observada no presente estudo. O teor de Cu observado por Kocyigit e Sanlier (*op. cit*) foi de 5,94 $\mu\text{g/g}$, concentração reduzida quando comparada com a observada por nós ou por Gogoasa et al., (2014). Quanto ao Mn, Kocyigit e Sanlier (2017) observaram uma concentração de 0,4 $\mu\text{g/g}$, muito abaixo do teor considerado adequado para tecidos vegetais que é de 50 $\mu\text{g/g}$ (Raven et al., 2005).

Segundo as DDRF, todos os minerais presentes não ultrapassam as DDR do Decreto-Lei nº54/2010, ou o VRN do Regulamento (UE) Nº 1169/2011, no entanto para os elementos não-essenciais como o As e Pb não se utilizou a DDR (por ausência de indicação), mas sim a Exposição Diária Permitida (EDP). Neste caso, surpreendentemente, tanto as bagas biológicas como as não biológicas apresentaram valores de Pb que excedem a EDP de 5 $\mu\text{g/dia}$ (EMA, 2016).

Os níveis de Pb detetados nas amostras variaram entre 11,3 e 11,6 $\mu\text{g/g}$, pelo que se forem seguidas as recomendações do fornecedor no que diz respeito à ingestão diária, as doses de Pb calculadas nas bagas utilizando as DDRF seriam de 315,3 μg para a Gb e de 324,8 μg para a Gnb, respectivamente, o que implicaria problemas de toxicidade crónica.

Diversos estudos demonstraram diferenças em relação à contaminação por metais pesados entre alimentos provenientes da agricultura orgânica ou biológica por oposição à agricultura convencional, não-biológica - alguns metais pesados foram detetados em maior concentração nos produtos não-biológicos, enquanto outros estudos demonstram exatamente o contrário (Jorhem e Slanina, 2000). Por exemplo Malmauret et al., (2002) observaram que quer o trigo-sarraceno quer as cenouras cultivadas de forma orgânica apresentavam teores de Pb acima dos limites máximos recomendados para este tipo de alimentos, o mesmo acontecendo para o trigo embora cultivado de forma convencional.

O Pb é um metal que ocorre naturalmente na crosta terrestre, no entanto é raramente encontrado naturalmente como metal. Na maioria das vezes, os níveis elevados encontrados no ambiente advêm das atividades humanas. A utilização de gasolina com chumbo contribuiu para o aumento da concentração de Pb no ambiente entre os anos de 1950 e 2000, mas também a atividade mineira e de fábricas que produzam ou usem Pb. O Pb é igualmente libertado para a atmosfera durante a queima do carvão, óleo e resíduos. As pessoas podem ficar expostas ao Pb pela respiração de ar contaminado, ou pela ingestão de água ou alimentos que contenham Pb (Toxicological Profile for Lead, 2007). Vegetais frescos, folhosos, que fazem parte da dieta humana, quando cultivados em solos contaminados com Pb, absorvem o elemento que pode atingir assim o homem (Finster et al., 2004), com consequências negativas a longo prazo.

Estudos realizados por Rangsipanuratn et al., (2017) demonstraram que as bagas de Goji da China mais contaminadas com Pb, apresentavam concentrações de aproximadamente 4 µg/g, teor bastante reduzido quando comparado com o observado neste trabalho de 11,3 µg/g para as Gb e 11,6 µg/g para as Gnb. Contudo, bastaria a ingestão de apenas 2 gramas por dia das bagas analisadas por Rangsipanuratn et al., (*op. cit.*) para exceder a EDP de 5 µg/dia de acordo com as recomendações da Agência Europeia do Medicamento (EMA, 2016), o que significa que as concentrações por nós verificadas constituem um risco de saúde pública quando a ingestão destas bagas é feita numa base regular.

Após a ingestão de Pb, este viaja no sangue até aos tecidos moles e órgãos. Depois de várias semanas, a maior parte do Pb entra nos ossos e dentes. Nos adultos, cerca de 94% da quantidade total de Pb no corpo está contida nos ossos e dentes. Cerca de 73% do chumbo nos corpos das crianças é armazenado nos ossos. Algum Pb pode ficar nos ossos por décadas, no entanto este pode deixar os ossos e reentrar no sangue e nos órgãos em determinadas circunstâncias, por exemplo, gravidez, períodos de amamentação (Toxicological Profile for Lead, 2007). Uma vez que este é distribuído pelos órgãos, o que não está armazenado nos ossos é eliminado do organismo pela urina ou fezes. Cerca de 99% da quantidade de Pb ingerida por um adulto é excretada

dentro de algumas semanas, mas apenas 32% é excretado no caso das crianças. (Toxicological Profile for Lead, 2007).

O principal alvo para a toxicidade do Pb é o sistema nervoso, tanto em adultos como em crianças (Mason et al., 2014). A exposição prolongada de adultos no trabalho resultou em diminuição do desempenho em alguns testes que medem as funções do sistema nervoso. Pode também causar fraqueza nos dedos, pulsos ou tornozelos, anemia, pequenos aumentos na pressão arterial particularmente em pessoas de meia-idade e idosos. Elevados níveis de exposição podem danificar gravemente o cérebro e os rins em adultos ou crianças e, finalmente causarem a morte. Não existem provas conclusivas de que o Pb causa cancro em humanos embora a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Cancro (IARC) tenha determinado que o Pb inorgânico é provavelmente cancerígeno para humanos (Toxicological Profile for Lead, 2007).

4.4 Composição Mineral do Cacau

Na figura 11 está representada a concentração dos minerais nas diferentes amostras, sendo possível observar ainda as barras de incerteza, ou seja, o desvio padrão.

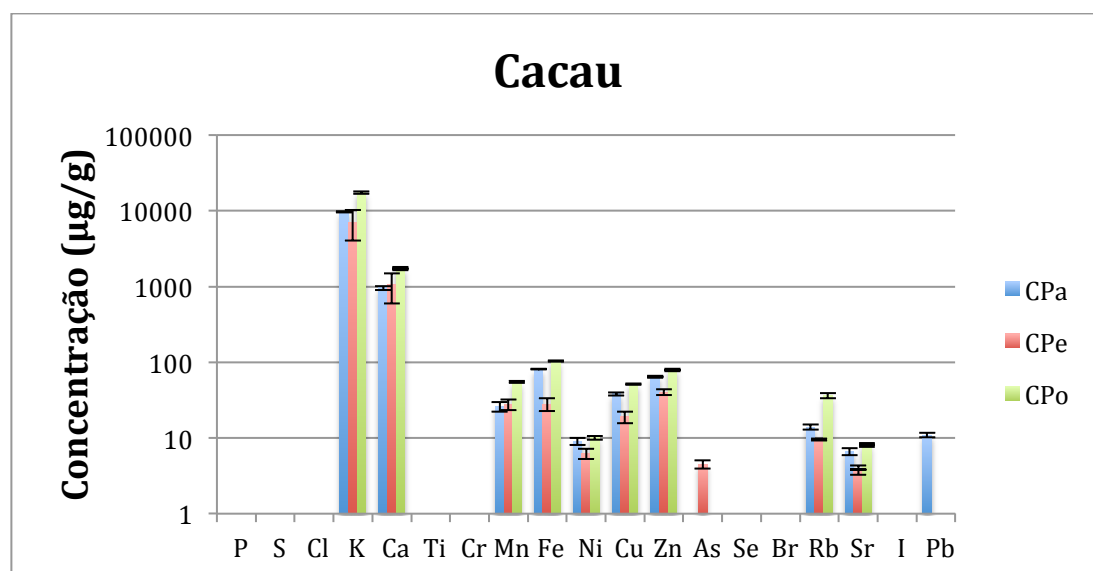


Figura 11 – Gráfico Representativo das Concentrações Minerais do Cacau com Diferentes Formas. CPa=cacau em pasta; CPe=cacau em pepita; CPo=cacau em pó

Quanto à composição mineral das diferentes formas de cacau, é possível observar através do gráfico da figura 11 e da tabela 4 que o cacau em pó (CPo) apresenta as concentrações mais elevadas para todos os minerais, comparativamente com as outras formas estudadas. O As e o Pb apenas foi observado no cacau em pepitas e pasta, respetivamente.

Tabela 4 – Concentrações de vários elementos minerais do cacau. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão ou em %, caso do K; n=3.

	CPa	CPe	CPo
K	$0,97 \pm 0,02\text{b}$	$0,71 \pm 0,03\text{b}$	$1,73 \pm 0,06\text{a}$
Ca	$957 \pm 62,7\text{b}$	$1051 \pm 45,3\text{b}$	$1722 \pm 84,1\text{a}$
Mn	$26,1 \pm 3,8\text{b}$	$27,8 \pm 4,4\text{b}$	$54,6 \pm 1,5\text{a}$
Fe	$81 \pm 1,0\text{b}$	$27,9 \pm 5,3\text{c}$	$104 \pm 1,7\text{a}$
Ni	$9,1 \pm 1,0\text{a}$	$6,2 \pm 0,9\text{b}$	$10,1 \pm 0,6\text{a}$
Cu	$38,3 \pm 1,9\text{b}$	$19 \pm 3,4\text{c}$	$51,1 \pm 1,1\text{a}$
Zn	$64,1 \pm 1,7\text{b}$	$40,2 \pm 3,5\text{c}$	$79,0 \pm 2,8\text{a}$
As	—	$4,5 \pm 0,6$	—
Rb	$13,9 \pm 1,1\text{b}$	$9,5 \pm 0,3\text{c}$	$36,1 \pm 2,7\text{a}$
Sr	$6,7 \pm 0,7\text{a}$	$3,8 \pm 0,5\text{b}$	$8,1 \pm 0,6\text{a}$
Pb	$10,9 \pm 0,8$	—	—

Concentrações médias na mesma linha, seguidas de uma letra não-comum são significativamente diferentes para um nível de significância de 95%. Os elementos não referidos na Tabela, a existir, estão abaixo do limite de deteção.

O K apresentou uma concentração de 1,73% para o CPo, enquanto nas outras formas de cacau a concentração nem sequer atingiu 1%. No caso do Ca, o caso é semelhante, o CPo apresentava uma concentração de 1722 $\mu\text{g/g}$, enquanto o CPa e o CPe apresentaram concentrações de 957 $\mu\text{g/g}$ e 1051 $\mu\text{g/g}$ respetivamente. O mesmo se

verificou para o Mn, embora as concentrações do elemento em CPa e CPe fossem praticamente idênticas. Quanto ao Fe os teores observados variaram entre 104 µg/g para o CPo e 27,9 µg/g, no caso do CPe, enquanto para o Ni as concentrações variaram entre 10,1 µg/g para o CPo e 6,2 µg/g para o CPe.

O cacau em pó (CPo) continha uma concentração de 51,1 µg/g de Cu, enquanto as outras formas de cacau apresentavam concentrações inferiores de 38,3 µg/g e 19,0 µg/g, para o CPa e o CPe, respectivamente. Quanto ao Zn os teores observados variaram entre 79 µg/g para o CPo e 40,2 µg/g, no caso do CPe.

Todas estas observações indicam que o processamento da matéria-prima tem influência no produto final, dado que o cacau em pepitas e em pasta apresentam de forma sistemática os teores minerais mais baixos quando comparados com o cacau em pó. A tendência anterior mantém-se no caso do Rb e do Sr como se pode observar pela figura 11 e tabela 4. Acrescente-se que o cacau em pasta também designado por licor de cacau é obtido esmagando os grãos num líquido que rapidamente solidifica à temperatura ambiente, pelo que existe uma diluição natural do conteúdo mineral.

Na tabela 5 é possível observar as diferentes concentrações de alguns elementos do cacau em pó do presente trabalho e do cacau analisado por Moreno et al., (2015), com origens no Equador e no Ghana.

Estudos elaborados por Moreno et al., (2015) demonstraram que o cacau do Equador apresenta concentrações de Ca, K, Fe, Zn e Cu claramente superiores às observadas no cacau do Ghana, embora os teores de Mn observados no cacau do Ghana sejam superiores. Em relação às concentrações de Ca, Cu, K, Mn e Zn por nós observadas no cacau em pó, elas eram superiores às observadas por Moreno et al., (*op. cit.*) tanto para o cacau do Equador como para o cacau do Ghana (tabela 5). De qualquer modo, não é possível chegar a uma conclusão quanto à origem do cacau por nós analisado com base nos teores de alguns elementos.

Badmus e Shittu (2009) observaram que o cacau em pó analisado apresentava uma concentração de Ca, Cu e Fe que variava entre 140-5740 µg/g, 3-32 µg/g e 95-652 µg/g, respetivamente. Os teores de Ca por nós observados e por Moreno et al., (2015), tanto no cacau do Equador como no do Ghana, são concordantes com os de

Badmus e Shittu (2009). Quanto ao Cu, os teores verificados por Badmus e Shittu (2009) são bastante inferiores quando comparado com os nossos, mas concordantes com os observados para o cacau do Equador e do Ghana (Moreno et al., 2015). A concentração de Fe do cacau em pó do presente trabalho, está perto do limite mínimo definido por Badmus e Shittu (2009), embora Moreno et al., (2015) tenham observado um teor de Fe no cacau do Ghana, muito inferior a esse limite, ou seja 67,8 µg/g.

Tabela 5 – Concentrações de vários elementos minerais do cacau em pó com diferentes proveniências. Os valores são expressos em µg/g ± desvio padrão ou em %, caso do K.

	Cacau em pó (presente trabalho)	Cacau do Equador (Moreno et al., 2015)	Cacau do Ghana (Moreno et al., 2015)
Ca (µg/g)	1722 ± 84,1	1225 ± 18	1136 ± 11
K (µg/g)	1,73 ± 0,06	1,25 ± 0,05	1,20 ± 0,07
Fe (µg/g)	104 ± 1,7	146 ± 12	67,8 ± 8
Mn (µg/g)	54,6 ± 1,5	21,6 ± 0,5	39,3 ± 1,1
Zn (µg/g)	79,0 ± 2,8	44,6 ± 0,21	37,1 ± 1,2
Cu (µg/g)	51,1 ± 1,1	26,1 ± 1,4	24,5 ± 0,9

A Dose Diária Recomendada pelo Fornecedor (DDRF) é de 10 g para todas as formas de cacau. Seguindo as DDRF e tendo em atenção os teores observados para os diferentes elementos, a ingestão das diferentes formas não excedem em nenhuma circunstância a Dose Diária Recomendada (DDR) de K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu e Zn do Decreto-Lei nº54/2010, de 2000 mg/dia, 600 mg/dia, 3 mg/dia, 14 mg/dia, 50 mg/dia, 1 mg/dia e 10 mg/dia, respetivamente.

O Rb e o Sr foram igualmente detetados em todas as formas de cacau, embora ainda não existam valores de referência para a DDR. Conforme referido no item 4.2, a

ingestão desses minerais através da comida não constitui um risco para a saúde pública.

Como anteriormente referido, para alguns elementos não se utilizou a DDR, mas sim a Exposição Diária Permitida (EDP). No caso do cacau, surpreendentemente, a CPe apresentou níveis de As que excedem a EDP de 15µg/dia e a CPa apresentou níveis de Pb que excedem a EDP de 5µg/dia.

Os níveis de As e Pb detetados nas amostras são reduzidos pois referem-se a cada grama de produto testado. A dose de As calculada utilizando a DDRF para o CPe foi de 45,3 µg, enquanto a dose de Pb calculada utilizando a DDRF para o CPa foi de 109,3 µg, significando que o As e o Pb excedem em 202% e 2086% em relação à Exposição Diária Permitida para o CPe e o CPa respetivamente.

O As como anteriormente referido no item 4.2 é considerado um agente carcinogénico humano, sendo que o As inorgânico é mais tóxico comparativamente ao As orgânico. Assume-se que a proporção de As inorgânico em alimentos, exceto alimentos de origem marinha seja em média de 70% (<http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm280202.htm>).

Lee e Low (1985) analisaram a presença de contaminantes em várias formas de cacau, incluindo o cacau em pepitas, concluindo que o cacau em pepitas apresentava um teor de As que variava entre 1,96-2,65 µg/g. A concentração de As por nós detetada no cacau em pepitas foi de 4,5 µg/g, concentração aproximadamente 2 vezes superior à observada por Lee e Low (1985).

Considerando a média de 70% de As inorgânico nos alimentos terrestres, o cacau em pepitas que pela DDRF, apresentaria um teor de As total de 45,3 µg, teria então 31,7 µg de As inorgânico.

Como anteriormente referido, a exposição a elevadas concentrações de Pb podem danificar gravemente o cérebro em adultos ou crianças e, finalmente, pode causar a morte (Mason et al., 2014).

Lee e Low (1985) observaram que o cacau em pasta apresentava um teor de Pb de 1,34 µg/g. A concentração de Pb no cacau em pasta do presente estudo foi de 10,9 µg/g, concentração esta quase 10 vezes superior à observada por Lee e Low (*op. cit.*).

Os mesmos autores (Lee e Low, *op.cit.*) verificaram que a maior concentração de Pb foi encontrada na casca da semente de cacau torrado (9,14 µg/g), enquanto a casca da semente de cacau em bruto apresentava uma concentração embora inferior muito aproximada - 8,28 µg/g, o mesmo acontecendo em relação à semente torrada e em bruto, isto é, 4,09 µg/g e 4,25 µg/g, respetivamente, tendo concluído que o processamento da matéria-prima permite produzir pasta e doces contendo cacau em geral sem concentrações que possam pôr em perigo a saúde dos consumidores.

Conclusões opostas podem ser extraídas do presente estudo, uma vez que a sua forma bruta (em pó), não apresentou contaminação por As ou Pb, mas as formas processadas como as pepitas e a pasta apresentaram As e Pb, respetivamente.

4.5 Composição Mineral da Moringa

Na figura 12 está representada a concentração dos minerais analisados nas diferentes amostras, sendo possível observar ainda o desvio padrão.

Quanto à composição mineral das moringas com diferentes origens, é possível observar através do gráfico da figura 12 e da tabela 6 que o P, S e Rb estão apenas presentes na moringa do Egito (ME). A dose de ingestão diária recomendada pelo fornecedor (DDRF) é de 6 g tanto para a ME como para a MM. Quer as concentrações de P, quer de S, conjugadas com as DDRF não excedem as Doses Diárias Recomendadas (DDR) pelo Decreto-Lei nº54/2010 de 700 mg/dia.

As concentrações de Cl, Ca, Ti, Mn, Fe e Sr na Moringa do Egito eram superiores às observadas na MM, existindo diferenças significativas entre os teores médios para um nível de significância de 95%. Apenas as concentrações de K não eram significativamente diferentes, embora a concentração mais elevada fosse ainda observada na Moringa do Egito (Figura 12 e tabela 6).

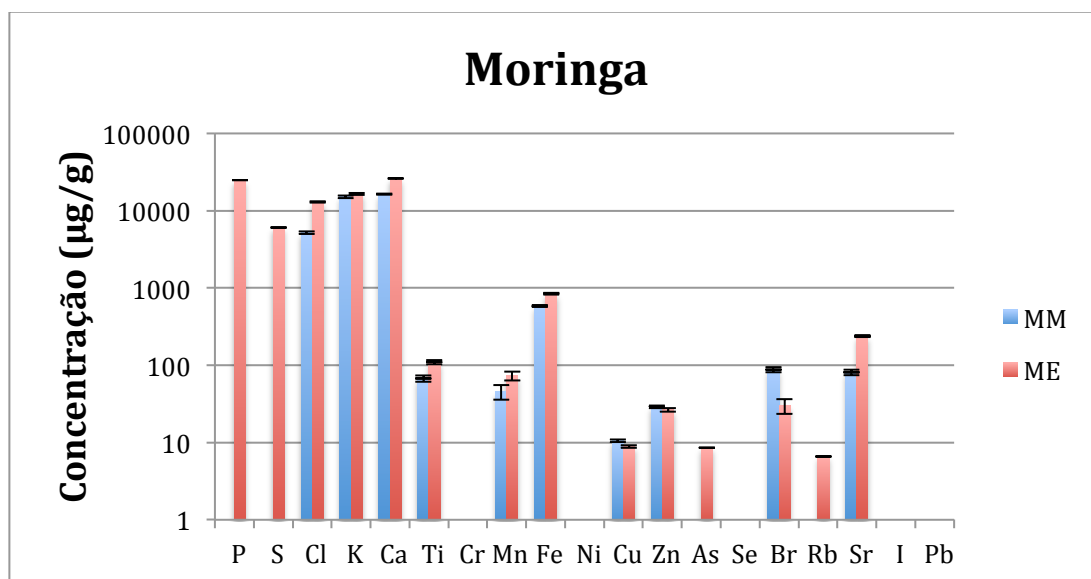


Figura 12 – Gráfico representativo das concentrações minerais da moringa com diferentes origens. MM=Moringa de Moçambique; ME=Moringa do Egipto

Tendo em atenção as concentrações observadas na ME e na MM e as DDRF conclui-se que a Dose Diária Recomendada (DDR) de K, Ca, Mn e Fe pelo Decreto-Lei nº 54/2010 de 2000 mg/dia, 600 mg/dia, 3 mg/dia e 14 mg/dia respetivamente, não é excedida tal como o Valor de Referência de Nutrientes (VRN) do Cl de 800 mg/dia do Regulamento (UE) Nº 1169/2010. Em relação ao Sr embora ainda não existam valores de referência para a DDR, conforme referido no item 4.2, a ingestão deste mineral não constitui um risco para a saúde pública.

No que diz respeito ao Cu, Zn e Br, as concentrações mais elevadas foram observadas na MM com teores de 10,5 µg/g, 29 µg/g e 87,7 µg/g, respetivamente, enquanto a ME apresentava as seguintes concentrações: 8,9 µg/g, 26,4 µg/g e 30 µg/g, também respetivamente. Contudo, interessa referir que os teores médios de Cu e Zn nas moringas não eram significativamente diferentes ($P \leq 0.05$).

Seguindo as DDRF nem a MM nem a ME excede a Dose Diária Recomendada (DDR) de Cu e Zn do Decreto-Lei nº54/2010 de 1 mg/dia e 10 mg/dia,

respetivamente. Em relação ao Br não existem valores de referência para a DDR pois não existe evidência de toxicidade e a sua ingestão através da comida não constitui um risco para a saúde pública.

Tabela 6 – Concentrações de vários elementos minerais da moringa com diferentes proveniências. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão, ou em %, caso do Cl, K e do Ca; $n=3$.

	MM	ME
P	—	$2,5 \pm 0,05$
S	—	6058 ± 254
Cl	$0,52 \pm 0,02\text{b}$	$1,29 \pm 0,13\text{a}$
K	$1,5 \pm 0,05\text{a}$	$1,6 \pm 0,08\text{a}$
Ca	$1,6 \pm 0,02\text{b}$	$2,6 \pm 0,08\text{a}$
Ti	$67,5 \pm 6,3\text{b}$	$109 \pm 9,4\text{a}$
Mn	$45,4 \pm 9,6\text{b}$	$73,2 \pm 2,8\text{a}$
Fe	$584 \pm 18,9\text{b}$	$840 \pm 20,4\text{a}$
Cu	$10,5 \pm 0,4\text{a}$	$8,9 \pm 0,5\text{a}$
Zn	$29,0 \pm 2,3\text{a}$	$26,4 \pm 0,6\text{a}$
As	—	$8,5 \pm 1,0$
Br	$87,7 \pm 6,7\text{a}$	$30 \pm 2,1\text{b}$
Rb	—	$6,6 \pm 1,0$
Sr	$80,9 \pm 6,5\text{b}$	$237 \pm 21,6\text{a}$

Concentrações médias na mesma linha, seguidas de uma letra não-comum são significativamente diferentes para um nível de significância de 95%. Os elementos não referidos na Tabela, a existir, estão abaixo do limite de deteção.

Estudos elaborados por Aslam et al., (2005) demonstraram que a moringa do Paquistão apresenta concentrações de Cu, K e Mn superiores às observadas neste

trabalho, embora a moringa do Egito tenha teores de Ca e Fe superiores aos encontrados na moringa de Moçambique e do Paquistão. No que diz respeito ao Zn, as concentrações por nós observadas que variavam entre 26,4 e 29 µg/g, são claramente superiores ao valor médio verificado por Aslam et al., (2005) de 20.9 µg/g.

A tabela 7 compara as concentrações de alguns minerais da moringa do Egito e de Moçambique com as concentrações da moringa do Paquistão.

Tabela 7 – Comparação das concentrações de vários elementos na moringa com diferentes proveniências. Os valores são expressos em µg/g ± desvio padrão, ou em %, caso do Cl, K e do Ca.

	Moringa do Egito	Moringa de Moçambique	Moringa do Paquistão (Aslam et al., 2005)
K (µg/g)	1,6 ± 0,08	1,5 ± 0,05	1,97 ± 0,07
Ca (µg/g)	2,62 ± 0,08	1,63 ± 0,02	1,89 ± 0,065
Fe (µg/g)	840± 20,4	584 ± 18,9	397± 2,93
Cu (µg/g)	8,9 ± 0,5	10,5 ± 0,4	11,2 ± 0,05
Mn (µg/g)	73,2 ± 2,8	45,4 ± 9,6	113 ± 1,06
Zn (µg/g)	26,4 ± 0,6	29,0 ± 1,3	20,9 ± 0,06

Ao estudar a composição mineral das folhas de moringa do Quénia e da Etiópia, Kumssa et al., (2017) concluíram que em média, as moringas tinham concentrações elevadas de Ca e Zn. De facto, a concentração média de Ca foi de 1,83%, concentração superior à por nós observada na moringa de Moçambique mas inferior

à moringa do Egito e à concentração observada por Aslam et al., (2005) para o caso da moringa do Paquistão.

Quer as concentrações de Cu, quer as concentrações de Fe observadas por Kumssa et al., (2017) são inferiores às observadas por Aslam et al., (2005) e pelo presente trabalho. Inversamente, a concentração de Zn medida por Kumssa et al., (2017) foi de 35,6 µg/g, concentração essa superior à de todas as moringas estudadas por nós e por Aslam et al., (2005).

Factores edafo-climáticos e de desenvolvimento das plantas poderão explicar as diferenças nas concentrações verificadas em áreas do globo tão distintas, para além das diferenças inerentes às metodologias analíticas.

Segundo as DDRF, todos os minerais presentes não ultrapassam as DDR do Decreto-Lei nº54/2010, ou o VRN do Regulamento (UE) N° 1169/2010, no entanto, para os elementos não-essenciais As e Pb não se utilizou a DDR ou o VRN, mas sim a Exposição Diária Permitida (EDP). Neste caso, surpreendentemente, apenas a ME apresenta valores de As que excedem a EDP de 15 µg/dia.

O nível de As detetado na amostra de ME foi de 8,5 µg/g valor que pode ser ampliado se ingerirmos as 6 g diárias, dose recomendada pelo fornecedor. Neste contexto, a ingestão de As corresponderá a 51,2 µg, significando que o As excede em 241% em relação à EDP.

Como anteriormente referido, assume-se que a proporção de As inorgânico em alimentos, excepto alimentos de origem marinha seja em média de 70% (<http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm280202.htm>).

Limmatvapirat et al., (2015) analisaram a presença de contaminantes em várias amostras de folhas de moringa, concluindo que a moringa apresentava um teor de As que variava entre 0,1-1,6 µg/g. A concentração de As por nós observada na moringa do Egito foi de 8,5 µg/g, valor aproximadamente 5 vezes superior ao teor máximo detectado por Limmatvapirat et al., (2015).

Considerando a média de 70% de As inorgânico nos alimentos terrestres, a moringa do Egito terá 5,95 µg, pelo que a ingestão da dose diária recomendada pelo fornecedor implicará um valor final de 35,7 µg de As inorgânico.

4.6 Composição Mineral da Proteína de Cânhamo

Na figura 13 está representada a concentração dos minerais analisados nas diferentes amostras, sendo possível observar ainda as barras de incerteza, ou seja, o desvio padrão. Quanto à composição mineral da proteína de cânhamo com diferentes origens, é possível observar através do gráfico da figura 13 e da tabela 8 que o S apenas está presente na proteína da Lituânia (CL), o Ti apenas na proteína da China (CCHN) e o Br apenas na proteína genérica (C). A Dose Diária Recomendada pelo Fornecedor (DDRF) é de 30 g, independentemente da origem.

No que diz respeito às concentrações de Ca, Ni, Cu e Sr, o cânhamo genérico apresentava as concentrações mais elevadas, enquanto o cânhamo com origem na China apresentava por sua vez os teores mais elevados de K, Cr, Fe, Zn e Rb. A maior concentração de Mn foi observada no cânhamo de origem Lituana. Saliente-se que no cânhamo genérico não foi possível detetar As, Cr e Rb, contrariamente às amostras provenientes da China e da Lituânia.

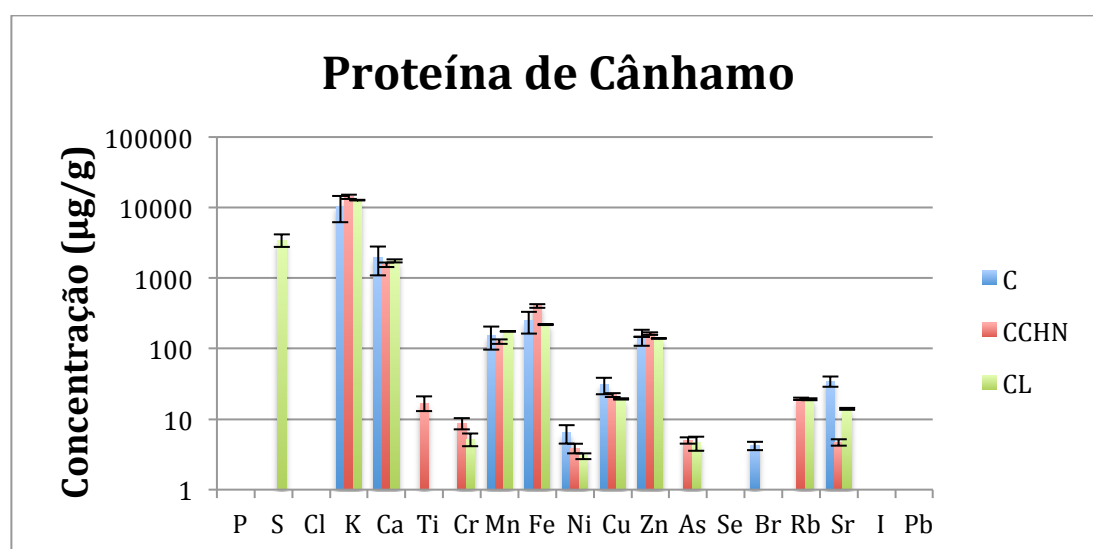


Figura 13 – Gráfico representativo das concentrações minerais da proteína de cânhamo com diferentes origens. C=Cânhamo genérico; CCHN=Cânhamo da China; CL=Cânhamo da Lituânia

A presença do Cr nas amostras da China e da Lituânia em concentrações de 8.9 µg/g e 5.2 µg/g, respetivamente, é uma razão de preocupação dado que este elemento sob a forma de Cr (VI) é considerado carcinogénico para humanos pela Agência Internacional para Pesquisa sobre o Cancro (IARC). Inversamente, o Cr (III) é essencial para o regular funcionamento do metabolismo humano, em particular no combate à diabetes, embora o excesso de Cr (III) possa resultar em erupções cutâneas ou noutros sintomas ainda mais graves. (<https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp7-c1-b.pdf>). Anemia, disfunção hepática e renal foram também relatados em estudos de exposição crónica ao Cr (III), contudo, constatou-se que os efeitos eram reversíveis e os parâmetros voltavam ao normal no prazo de um ano (Food Standards Agency, 2003).

A população em geral está exposta a traços vestigiais de Cr através da ingestão de alimento. Baixos níveis de Cr (III) ocorrem naturalmente, numa variedade de alimentos, como frutas, vegetais, nozes, bebidas e carnes. A ingestão alimentar diária segura e adequada estimada para o Cr é de 50 µg a 200 µg, no entanto, a maioria das dietas contém menos de 60% do consumo mínimo sugerido de 50 µg (Anderson, 1997). Se tivermos presente a concentração de Cr observada nas amostras da China e se ingerirmos a Dose Diária Recomendada pelo Fornecedor (DDRF) de 30 g, teríamos um consumo de 267 µg, valor superior ao máximo de 200 µg.

Seguindo a DDRF e tendo em consideração as concentrações por nós observadas, as Doses Diárias Recomendadas (DDR) para o K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu e Zn pelo Decreto-Lei nº54/2010 de 2000 mg/dia, 600 mg/dia, 3 mg/dia, 14 mg/dia, 50 mg/dia, 1 mg/dia e 10 mg/dia respetivamente, não são excedidas.

Estudos elaborados por Korkmaz et al., (2010) demonstraram que as sementes de cânhamo da Turquia apresentavam uma concentração de Ni, Cu, Zn, Fe e Mn que variava entre 0,6-1,7 µg/g, 9-12 µg/g, 46-72 µg/g, 98-121 µg/g e 70-102 µg/g, respetivamente, valores inferiores às amostras estudada por nós independentemente da origem (tabela 8).

Tabela 8 – Concentrações de vários elementos minerais da proteína de cânhamo com diferentes proveniências. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão ou em %, caso do K; n=3.

	C	CCHN	CL
S	—	—	$3462 \pm 69,5$
K	$1,04 \pm 0,04\text{b}$	$1,43 \pm 0,10\text{a}$	$1,26 \pm 0,15\text{a}$
Ca	$1934 \pm 84,9\text{a}$	$1544 \pm 122\text{b}$	$1760 \pm 91,5\text{ab}$
Ti	—	$16,9 \pm 4,0$	—
Cr	—	$8,8 \pm 1,6\text{a}$	$5,2 \pm 1,0\text{b}$
Mn	$152 \pm 5,5\text{b}$	$127 \pm 9,8\text{c}$	$176 \pm 2,9\text{a}$
Fe	$246 \pm 83,2\text{b}$	$404 \pm 25,3\text{a}$	$221 \pm 4,7\text{b}$
Ni	$6,4 \pm 1,9\text{a}$	$3,9 \pm 0,6\text{b}$	$3,0 \pm 0,3\text{b}$
Cu	$30,7 \pm 8,2\text{a}$	$22,0 \pm 1,5\text{b}$	$19,3 \pm 0,4\text{b}$
Zn	$147 \pm 3,8\text{b}$	$163,4 \pm 7,8\text{a}$	$140 \pm 2,7\text{b}$
As	—	$5,0 \pm 0,5\text{a}$	$4,6 \pm 1,1\text{a}$
Br	$4,2 \pm 0,6$	—	—
Rb	—	$19,3 \pm 0,7\text{a}$	$19,1 \pm 0,6\text{a}$
Sr	$34,6 \pm 6,0\text{a}$	$4,7 \pm 0,5\text{c}$	$13,9 \pm 0,5\text{b}$

Concentrações médias na mesma linha, seguidas de uma letra não-comum são significativamente diferentes para um nível de significância de 95%. Os elementos não referidos na Tabela, a existir, estão abaixo do limite de deteção.

Por sua vez, Mihoc et al., (2012) observaram que as sementes de cânhamo da Roménia continham uma concentração de Ca, K, Fe, Mn e Zn que variava entre $1440\text{-}9550 \mu\text{g/g}$, $4630\text{-}28210 \mu\text{g/g}$, $1133\text{-}2400 \mu\text{g/g}$, $63\text{-}110 \mu\text{g/g}$ e $42\text{-}94 \mu\text{g/g}$, respetivamente, o que realça a grande variabilidade encontrada nas amostras.

Saliente-se que a concentração de Fe nas sementes com origem na Roménia (Mihoc et al., 2012) eram claramente superiores às concentrações observada nas sementes da

Turquia por Korkmaz et al., (2010) e nas amostras do presente trabalho. Inversamente, os teores de Mn e Zn por nós analisados foram superiores aos observados por Mihoc et al., (*op. cit.*) e Korkmaz et al., (*op. cit.*) - tabela 8.

O nível de As detectado nas amostras da China e da Lituânia é cerca de 5µg/g; no entanto, se as DDRF forem atendidas, a ingestão de As será de 150 µg para o caso das amostras provenientes da China e 138 µg para o caso das amostras Lituanas, significando que a Exposição Diária Permitida (EDP) de 15µg/dia, é excedida em 10 vezes. Concomitantemente, teríamos uma ingestão de As inorgânico de cerca de 100 µg, com base na proporção de As inorgânico em alimentos (70%), que não marinhos (<http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm280202.htm>).

Eboh e Thomas (2005) analisaram a presença de contaminantes nas folhas e nas sementes do cânhamo cultivadas na Nigéria, concluindo que as folhas e as sementes apresentavam um teor de As de 13,6 µg/g e 7,48 µg/g respetivamente. Saliente-se que a concentração de As por nós observada na proteína de cânhamo da China e da Lituânia foi de 5 µg/g e 4,6 µg/g respetivamente. Provavelmente, a maior concentração de As que se encontra nas folhas e sementes diminui durante o processamento do cânhamo em proteína, que ainda apresenta níveis elevados de As.

4.7 Composição Mineral da Ashwagandha

Na figura 14 está representada a concentração dos diferentes minerais, onde são visíveis as diferenças entre as amostras, sendo possível observar ainda o desvio padrão.

A ashwagandha não biológica (Anb) apresenta uma concentração mais elevada de Cl, K, Ca, Br, Rb e Sr em relação à ashwagandha biológica (Ab) - figura 14 e da tabela 9.

As concentrações de Cl, K, Ca, Br, Rb e Sr, presentes na ashwagandha proveniente de cultura não-biológica (Anb) eram superiores às verificadas na ashwagandha proveniente de cultura biológica (Ab), apesar das diferenças entre as concentrações de K, Ca, Br, Rb e Sr, não serem significativamente diferentes para um nível de

significância de 95%. No caso do Cl, a concentração observada na Anb era cerca de 1,5 vezes mais elevada.

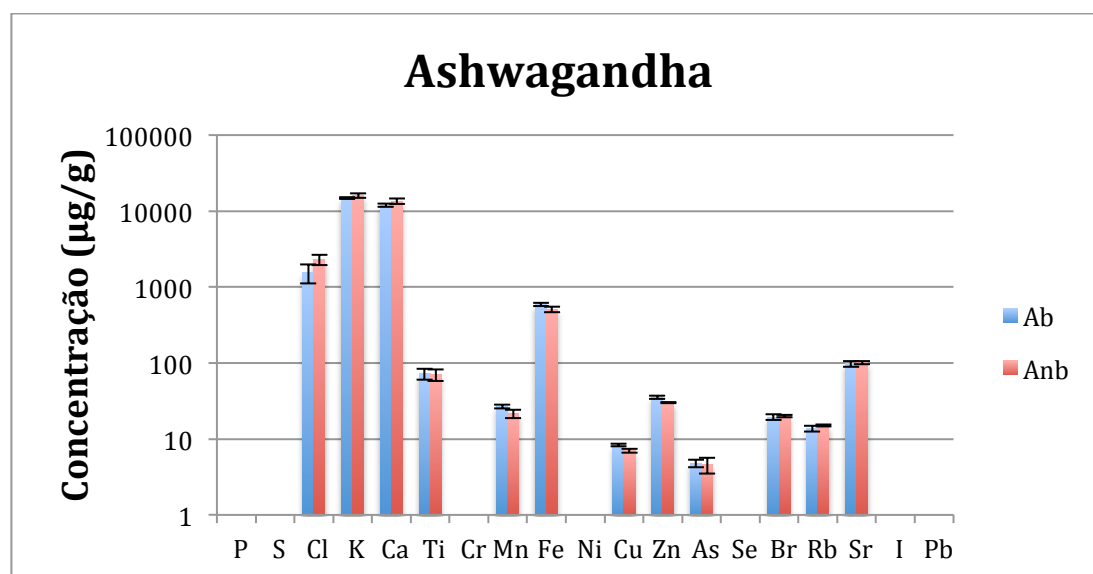


Figura 14 – Gráfico representativo das concentrações minerais da Ashwagandha Biológica (Ab) e Não Biológica (Anb)

A Dose Diária Recomendada pelo Fornecedor (DDRF) é de 2g tanto para a Anb como para a Ab. Se tivermos em consideração os teores médios observados nas amostras e seguindo as DDRF, o Valor de Referencia de Nutrientes (VRN) para o Cl de 800 mg/dia do Regulamento (UE) N° 1169/2010, não é excedido pela simples ingestão de ashwagandha biológica ou não-biológica. No que diz respeito ao K e ao Ca, tendo em conta a DDRF, não se excede a Dose Diária Recomendada (DDR) de 2000 mg/dia e 600 mg/dia respetivamente.

As concentrações de Ti, Mn, Fe, Cu, Zn e As, presentes na Ab eram superiores às verificadas na Anb, apesar das diferenças entre as concentrações não serem significativamente diferentes para um nível de significância de 95%.

Seguindo as DDRF nenhuma das ashwagandhas excede a Dose Diária Recomendada (DDR) de Mn, Fe, Cu e Zn do Decreto-Lei nº54/2010 de 3 mg/dia; 14 mg/dia, 1 mg/dia e 10 mg/dia respetivamente. Quanto ao Ti, não existem valores de referência

para DDR pois não existe evidência de toxicidade e a sua ingestão através da comida não constitui um risco para a saúde pública.

Tabela 9 – Concentrações de vários elementos minerais da ashwagandha biológica e não biológica. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão ou em % (K e Ca); n=3.

	Ab	Anb
Cl	$1549 \pm 43,2b$	$2284 \pm 35,6a$
K	$1,49 \pm 0,04a$	$1,59 \pm 0,11a$
Ca	$1,19 \pm 0,05b$	$1,35 \pm 0,11a$
Ti	$71,9 \pm 12,0a$	$69,6 \pm 11,9a$
Mn	$26,7 \pm 2,4a$	$21,5 \pm 2,8a$
Fe	$588 \pm 27,4a$	$507 \pm 40,6a$
Cu	$8,3 \pm 0,3a$	$7,0 \pm 0,4a$
Zn	$35,3 \pm 1,7a$	$30,0 \pm 2,4a$
As	$4,8 \pm 0,5a$	$4,6 \pm 1,1a$
Br	$19,4 \pm 1,6a$	$20,1 \pm 0,8a$
Rb	$13,7 \pm 1,2a$	$15,1 \pm 0,6a$
Sr	$97,9 \pm 8,8a$	$101 \pm 4,4a$

Concentrações médias na mesma linha, seguidas de uma letra não-comum são significativamente diferentes para um nível de significância de 95%. Os elementos não referidos na Tabela, a existir, estão abaixo do limite de deteção.

Kumari e Gupta (2016) analisaram o conteúdo mineral da raiz de ashwagandha desidratada. Observaram que a concentração de Fe foi de $21,7 \mu\text{g/g}$, o que é um valor bastante inferior ao por nós analisado nas bagas biológicas e não biológicas. O teor de Ca observado por Kumari e Gupta (2016) de $260 \mu\text{g/g}$ foi também bastante reduzido quando comparado ao por nós observado (tabela 9).

Estudos elaborados por Gulati et al (2017) demonstraram que a raiz da ashwagandha em pó analisada apresentava uma concentração de Fe, Cu, Zn e Mn que variava entre 595,8-983,3 $\mu\text{g/g}$, 8,4-13,7 $\mu\text{g/g}$, 16,3-41 $\mu\text{g/g}$ e 16,8-33,5 $\mu\text{g/g}$, respetivamente. O teor de Fe analisado por Gulati et al (2017) é muito superior ao analisado por Kumari e Gupta (2016), contudo os limites mínimos de Gulati et al (2017) são concordantes com os nossos. A concentração de Cu das ashwagandhas do presente trabalho, está perto do limite mínimo definido por Gulati et al (2017). O teor de Zn e de Mn por nós analisado, tanto na Ab como na Anb, é concordante com o analisado por Gulati et al (2017).

A concentração de As encontrada na Ab foi de 4,8 $\mu\text{g/g}$ e na Anb foi de 4,6 $\mu\text{g/g}$. A dose de As calculada na Ab utilizando as DDRF foi de 9,6 μg e na Anb de 9,2 μg . Assim sendo, nenhuma das duas ashwagandhas apresentam valores de As que excedem a Exposição Diária Permitida de 15 $\mu\text{g/dia}$

Uma vez que as duas raízes de ashwagandhas são fornecidas ao consumidor na forma de pó desidratado não existe maneira de controlar com precisão as medições domésticas da dose (2 g). Por este motivo, qualquer excesso na dose poderá exceder a Exposição Diária Permitida de 15 $\mu\text{g/dia}$.

Bais e Chandewar (2013) observaram que a ashwagandha por eles analisada apresentava uma concentração de As de aproximadamente 0,4 $\mu\text{g/g}$, concentração essa bastante inferior à por nós observada tanto na ashwagandha biológica (4,8 $\mu\text{g/g}$) como na não biológica (4,6 $\mu\text{g/g}$).

4.8 Composição Mineral de Camu Camu

Na figura 15 está representada a concentração dos diferentes minerais, onde são visíveis as diferenças entre as amostras, sendo possível observar ainda o desvio padrão.

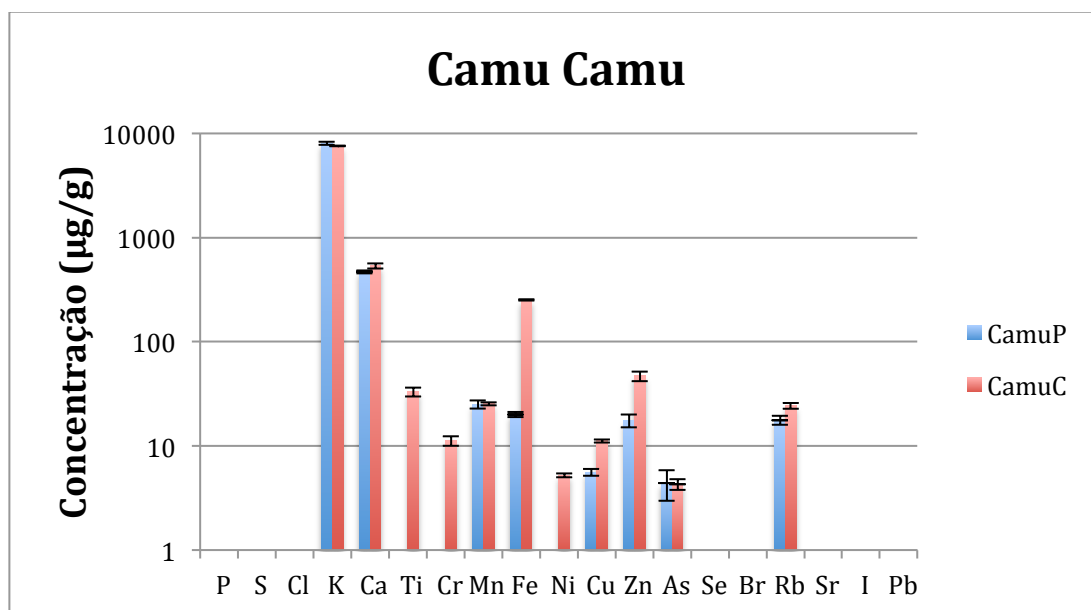


Figura 15 – Gráfico representativo das concentrações minerais de Camu Camu Premium (CamuP) e Certificado (CamuC)

Quanto à composição mineral das diferentes amostras, é possível observar através do gráfico da figura 15 e da tabela 10 que o Ti, Cr e Ni apenas estão presentes no Camu Camu Certificado (CamuC). A Dose Diária Recomendada pelo Fornecedor (DDRF) é de 3 g tanto para o CamuC como para o CamuP.

A concentração do Ti, Cr e Ni no CamuC é de 33,1 µg/g, 11,2 µg/g e 5,2 µg/g, respetivamente. Neste contexto, e seguindo as DDRF, o CamuC não excede a Dose Diária Recomendada (DDR) de Cr e Ni referidas pelo Decreto-Lei nº54/2010 de 40 µg/dia e 50 mg/dia respetivamente. Quanto ao Ti, não existem valores de referência para DDR pois não existe evidência de toxicidade e a sua ingestão através da comida não constitui um risco para a saúde pública.

As concentrações de Ca, Mn, Fe, Cu, Zn e Rb, presentes na CamuC eram superiores às verificadas na CamuP apesar das diferenças entre as concentrações de Ca, e Mn, não serem significativamente diferentes para um nível de significância de 95%. Contudo, em relação ao Fe, Cu, Zn e Rb as diferenças entre as concentrações eram

acentuadas. No que diz respeito ao Fe, o CamuC apresentava uma concentração de 253 $\mu\text{g/g}$ enquanto a amostra Premium apenas 20 $\mu\text{g/g}$. No mesmo sentido, as concentrações de Cu e Zn eram também superiores na CamuC - 11,2 $\mu\text{g/g}$ vs 5,6 $\mu\text{g/g}$ no caso do Cu, e 46,9 $\mu\text{g/g}$ vs 17,5 $\mu\text{g/g}$, no caso do Zn. No caso do Rb as concentrações eram mais aproximadas (tabela 10).

Seguindo as DDRF e tendo em atenção as concentrações observadas nas amostras Certificada e Premium, a ingestão deste tipo de suplementos não excede a dose diária recomendada (DDR) de K, Ca, Mn, Fe, Cu e Zn pelo Decreto-Lei nº54/2010 de 2000 mg/dia, 600 mg/dia, 3mg/dia, 14 mg/dia, 1 mg/dia e 10 mg/dia, respetivamente.

Estudos elaborados por Aguiar e Souza (2015) demonstraram que o camu camu apresenta concentrações de K, Ca, Fe, Mn, Zn e Cu de 7969,9 $\mu\text{g/g}$, 221,2 $\mu\text{g/g}$, 22,3 $\mu\text{g/g}$, 12,9 $\mu\text{g/g}$, 12,6 $\mu\text{g/g}$, 8,4 $\mu\text{g/g}$, respetivamente. A concentração de K observada por Aguiar e Souza (2015) é concordante com a por nós observada tanto na amostra Premium como na Certificada. As concentrações de Ca, Mn e Zn observadas por Aguiar e Souza (2015) foram inferiores às observadas por nós em ambas as amostras. Quanto aos teores de Fe e Cu observados por Aguiar e Souza (2015) eram inferiores aos observados por nós no CamuC mas superiores para o caso do CamuP (tabela 10).

Yuyama et al., (2003) observaram que o camu camu analisado em pó apresentava uma concentração de Ca, K, Fe e Zn que variava entre 65-106 $\mu\text{g/g}$, 626-1288 $\mu\text{g/g}$, 2010-6646 $\mu\text{g/g}$, 1310-4720 $\mu\text{g/g}$, respetivamente. Os teores de Ca e K eram inferiores aos observados por Aguiar e Souza (2015) e aos observados no presente trabalho. Inversamente, as concentrações de Fe e Zn observadas por Yuyama et al., (2003) eram claramente superiores às observadas por Aguiar e Souza (2015) e por nós próprios (tabela 10).

Tabela 10 – Concentrações de vários elementos minerais do camu camu premium e certificado. Os valores são expressos em $\mu\text{g/g} \pm$ desvio padrão ou em % (K); n=3.

	CamuC	CamuP
K	$0,76 \pm 0,01a$	$0,80 \pm 0,03a$
Ca	$536 \pm 30,7a$	$469 \pm 15,9a$
Ti	$33,1 \pm 3,3$	—
Cr	$11,2 \pm 1,2$	—
Mn	$25,4 \pm 0,8a$	$25,1 \pm 2,3a$
Fe	$253 \pm 4,3a$	$20,0 \pm 1,2b$
Ni	$5,2 \pm 0,2$	—
Cu	$11,2 \pm 0,4a$	$5,6 \pm 0,4b$
Zn	$46,9 \pm 5,1a$	$17,5 \pm 2,5b$
As	$4,3 \pm 0,5a$	$4,4 \pm 1,4a$
Rb	$24,2 \pm 1,5a$	$17,7 \pm 1,8b$

Concentrações médias na mesma linha, seguidas de uma letra não-comum são significativamente diferentes para um nível de significância de 95%. Os elementos não referidos na Tabela, a existir, estão abaixo do limite de deteção.

A concentração de As encontrada no CamuP foi de $4,4 \mu\text{g/g}$ e no CamuC foi de $4,3 \mu\text{g/g}$. A dose de As calculada no CamuP utilizando as DDRF foi de $13,2 \mu\text{g}$ e no CamuC de $12,9 \mu\text{g}$. Assim sendo, a ingestão diária não ultrapassa a Exposição Diária Permitida de $15 \mu\text{g}$ de As por dia.

Uma vez que as amostras Certificadas e Premium são fornecidas ao consumidor na forma de pó desidratado a DDRF de 3 g pode ser facilmente ultrapassada pela ausência de uma medição doméstica precisa. Por este motivo, um excesso na dose, pode facilmente exceder a Exposição Diária Permitida de $15 \mu\text{g}$ de As por dia.

5 Conclusões e Perspetivas Futuras

Os suplementos alimentares são geralmente utilizados pela maioria das pessoas de forma voluntária e sem supervisão ou conhecimento rigoroso dos efeitos adversos para a saúde, em contraste dos medicamentos que estão sob o controle dos médicos. Este projeto avaliou a qualidade de 18 suplementos alimentares, populares e de venda livre em Portugal, no que diz respeito à composição mineral.

Os minerais presentes na maioria dos suplementos alimentares não excedem a dose diária recomendada ou valor de referência de nutrientes, contudo o Cr presente na proteína de cânhamo excedeu a dose diária recomendada.

O nível de exposição diária permitida para elementos tóxicos como Pb e As foi excedido em algumas amostras analisadas. Tomando em consideração a dose diária recomendada pelo fornecedor, tanto as bagas de gogi biológicas e não biológicas como o cacau em pasta, apresentaram níveis de Pb que excedem a exposição diária permitida. Também foram detetados níveis de As que excedem a exposição diária permitida nas 2 macas (negra e x-presso), no cacau em pepitas, na moringa do Egito e nas proteínas de cânhamo.

Em relação às perspetivas futuras, apesar dos resultados obtidos demonstrarem a presença de minerais benéficos à saúde, foi possível também detectar a presença de metais pesados. Neste contexto, é imperioso realizar mais ensaios e avaliações de amostras idênticas ou de outros suplementos que não foram objecto deste estudo, de modo a validarmos de forma inequívoca uma avaliação mais conclusiva sobre o risco para a saúde pública. É igualmente necessário também que as autoridades Portuguesas exerçam maior vigilância no mercado dos suplementos, principalmente na presença de contaminantes.

6 Referências Bibliográficas

1. Aguiar J. P. L., Souza F. C. A. (2015). Antioxidants, chemical composition and minerals in freeze-dried Camu-Camu (*Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh) Pulp Food and Nutrition Sciences. 6, 869-874.
2. Al-Omari S. (2011). Determination of essential and toxic elements in ten herbal medicines using energy-dispersive XRF analysis. X-Ray Spectrometry. 40, 31-36.
3. Anderson R. A. (1997). Chromium as an Essential Nutrient for Humans. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 26(1), 35-41.
4. Aslam M., Anwar F., Nadeem R., Rashid U., Kazi T. G., Nadeem M. (2005). Mineral Composition of *Moringa oleifera* Leaves and Pods Different Regions of Punjab, Pakistan. Asian Journal of Plant Sciences. 4, 417-421.
5. Badmus B. A., Shittu T. A. (2009). Statistical correlations between mineral element composition, product information and retail price of powdered cocoa beverages in Nigeria. Journal of Food Composition and Analysis. 22, 212-217.
6. Bais S., Chandewar A. V. (2013). Toxicological standardization marketed Ashwagandha formulations by atomic absorption spectroscopy. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 6(5), 45-48.
7. Brixen K., Nielsen H. K., Charles P., Mosekilde L. (1992). Effect of a short course of oral phosphate treatment on serum parathyroid hormone (I-84) and biochemical markers of bone turnover: a dose-response study. Calcified Tissue International. 51, 276-281.
8. Canavese C., Decostanzi E., Branciforte L., Caropreso A., Nonnato A., Sabbioni E. (2001). Depression in dialysis patients: Rubidium supplementation before other drugs and encouragement? Kidney International. 60(3), 1201-1202.
9. Centro Nacional de Alimentación y Nutrición Instituto Nacional de Salud, (2009). Tablas Peruanas de Composición de Alimentos. Lima. Consultado a 9

de Setembro de 2018,

<http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf>

10. Chang R. C., So K. F. (2008). Use of anti-aging herbal medicine, *Lycium barbarum*, against aging-associated diseases. What do we know so far? *Cellular and Molecular Neurobiology*, 28(5), 643-652.
11. Coppens, P., Da Silva, M. F., Pettman, S. (2006). European regulations on nutraceuticals, dietary supplements and functional foods: A framework based on safety. *Toxicology*, 221(1), 59-74.
12. Decreto-Lei n.º 54/2010 de 28 de Junho do Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas (2010). Consultado a 9 de Setembro de 2018, de Diário da República: Série I, N.º 104: www.dre.pt
13. Decreto-Lei n.º 118/2015 de 23 de Junho do Ministério da Agricultura e do Mar (2015). Consultado a 4 de Agosto de 2018, de Diário da República: Série I, N.º 120: www.dre.pt
14. Decreto-Lei n.º 136/2003 de 28 de Junho do Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas (2003). Consultado a 15 de Março de 2016, de Diário da República: Série I-A, N.º 147: www.dre.pt
15. Dini, A., Migliuolo G., Rastrelli L., Saturnino P., Schettino O. (1994). Chemical composition of *Lepidium meyenii*. *Food Chemistry*. 49, 347-349.
16. Directiva 2002/46/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 10 de Junho (2002). Consultado a 15 de Março de 2016, de Jornal Oficial das Comunidades Europeias n.º L 183: www.eur-lex.europa.eu
17. European Medicines Agency, Science Medicines Health. (2016) Committee for Human Medicinal Products. ICH guideline Q3D on elemental impurities. Consultado em Agosto 2018: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2015/01/WC500180284.pdf

18. Eboh L. O., Thomas B. E. (2005). Analysis of heavy metal content in cannabis leaf and seed cultivated in southern part of Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition*. 4(5)349-351.
19. Finster M. E., Gray K. A., Binns H. J. (2004) Lead levels of edibles grown in contaminated residential soils. A field survey. *Science of the Total Environment*. 320(2-3), 245-57.
20. Food Standards Agency. (2003). Safe upper levels for vitamins and minerals. expert group on vitamins and minerals. London (UK).
21. Fugh-Berman A. e Cott J. M. (1999). Dietary supplements and natural products as psychotherapeutic agents. *Psychosomatic Medicine*. 61(5), 712-728.
22. Garcia R. L., Leyva P. J., Jara M. M. E. (2007). Content and daily intake of copper, zinc, lead, cadmium and mercury from dietary supplements in Mexico. *Food Chemistry Toxicology* 45, 1599-1605.
23. Gogoasa I., Alda L., Rada M., Negrea P., Negrea A., Bodean D. M., Velciov A., Draghici G. A., Gergen I. (2014). Goji berries (*Lycium barbarum*) as a source of trace elements in human nutrition. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. 20(4), 369-372.
24. Gonzales G. F., Ruiz A., Gonzales C., Villegas L., Cordova A. (2001). Effect of *Lepidium meyenii* (Maca) roots on spermatogenesis of male rats. *Asian Journal of Andrology*. 3, 231-233.
25. Gonzales G. F., Gonzales C., Gonzales-Castañeda C. (2009). *Lepidium meyenii* (Maca): a Plant from the highlands of Peru – from tradition to science. *Research in Complementary Medicine*. 16(6), 373-80.
26. Guerra, M., Manso, M., Pessanha, S., Longelin, S., Carvalho, M. L. (2013) Theoretical and experimental study on the angular dependence of scattering processes in X-ray fluorescence systems, *X-Ray Spectrometry*, 42, 402–407.
27. Gulati S., Madan V. K., Singh S., Singh I., Dusyant. (2017). Chemical and phytochemical composition of Ashwagandha (*Withania somnifera* L.) roots. *Asian Journal of Chemistry* 29(8), 1683-1686.

28. Hii C. L., Law C. L., Suzannah S., Cloke M. (2009). Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao L.*). Asian Journal of Food & Agro-industry. 2, 702-722.
29. Hsieh Y. C., Lien L. M., Chung W. T., Hsieh F. I., Hsieh P. F., Wu M. M., Tseng H. P., Chiou H. Y., Chen C. J. (2011). Significantly increased risk of carotid atherosclerosis with arsenic exposure and polymorphisms in arsenic metabolism genes. Environmental Research. 111, 804-810.
30. Ibric A., Cavar S. (2014). Phenolic compounds and antioxidant activity of cocoa and chocolate products. Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina. 42, 37-40.
31. Jorhem L., Slanina P. (2000). Does organic farming reduce the content of cadmium and certain other trace metals in plant foods? A pilot study. Journal of the Science of Food and Agriculture. 80, 43-48.
32. Kitchin K. T., Conolly R. (2010). Arsenic-induced carcinogenesis—oxidative stress as a possible mode of action and future research needs for more biologically based risk assessment. Chemical Research in Toxicology. 23, 327-335.
33. Kocyigit E., Sanlier N. (2017). A review of composition and health effects of *Lycium barbarum*. International Journal of Chinese Medicine. 1(1), 1-9.
34. Korkmaz K., Kara S. M., Ozkutlu F., Gul V. (2010). Monitoring of heavy metals and selected micronutrients in hempseeds from North-western Turkey. African Journal of Agricultural Research. 5(6), 463-467.
35. Kristal A. R., Lampe J. W. (2002). Brassica vegetables and prostate cancer risk: a review of the epidemiological evidence. Nutrition and Cancer. 42, 1-9.
36. Kumari S., Gupta A. (2016). Nutritional composition of dehydrated ashwagandha, shatavari, and ginger root powder. International Journal of Home Science. 2(3), 68-70.
37. Kumssa D. B., Joy E. M., Young S. D., Odee D. W., Ander E. L., Magare C., Gitu J., Broadley M. R. (2017). Challenges and opportunities for *Moringa* growers in southern Ethiopia and Kenya. PLoS One, 12 (11): e0187651. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187651>

38. Lane J. (2012). The next chapter in sports nutrition: The category continues to wield enormous power in the dietary supplement market, so where will it go from here? The sky's the limit. *Nutraceuticals World Magazine*.
39. Latif R. (2013). Health benefits of cocoa. *Current Opinion in Clinical Nutrition Metabolic Care*. 16, 669-674.
40. Lee C. K., Low K. S. (1985). Determination of cadmium, lead, copper and arsenic in raw cocoa, Semifinished and finished chocolate products. *Pertanike*. 8(2), 243-248.
41. Li J., Chen L., Li J., Duan Z., Zhu S., Fan L. (2017). The composition analysis of Maca (*Lepidium meyenii Walp.*) from Xinjinag and Its antifatigue activity. *Hindawi Journal of Food Quality*. 17, 1-7.
42. Limmatvapirat C., Limmatvapirat S., Charoenteeraboon J., Wessapan C., Kumsum A., Jenwithayaamornwech S., Luangthuwapranit P. (2015). *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 77(4), 485-490.
43. Lu R. R., Qian P., Sun Z., Zhou X. H., Chen T. P., He J. F., Zhang H., Wu J. (2010). Hempseed protein derived antioxidative peptides: Purification, identification and protection from hydrogen peroxide-induced apoptosis in PC12 cells. *Food Chemistry*. 123, 1210-1218.
44. Maeda R. N., Pantoja L., Yuyama L. K. O., Chaar J. M. (2006). "Formulation determination and characterisation of the camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh) nectar", *Food Science and Technology*. 26(1), 70-74.
45. Malmauret L., Parent-Massin D., Hardy J.-L., Verger P. (2002). Contaminants in organic and conventional foodstuffs in France. *Food Additives and Contaminants*. 19(6), 524-532.
46. Marken P. A., Weart C. W., Carson D. S., Gums J. G., Lopes-Virella M. F. (1989). Effects of magnesium oxide on the lipid profile of healthy volunteers. *Atherosclerosis*. 77, 37-42.
47. Martinez C. S., Carricajo F. C., Perez-Fernandez R. (2004). Effect of an integral suspension of *Lepidium latifolium* on prostate hyperplasia in rats. *Fitoterapia*. 75, 187-191.

48. Marzzoco A. e Torres B. (1999). Bioquímica Básica. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan S.A.
49. Mason L. H., Harp J. P., Han D. Y. (2014). Pb neurotoxicity: Neuropsychological effects of lead toxicity. BioMed Research International, 840547, 8 pp.
50. Mihoc M., Pop G., Alexa E., Radulov I. (2012). Nutritive quality of romanian hemp varieties (*Cannabis sativa* L.) with special focus on oil and metal contents of seeds. Chemistry Central Journal. 6, 122.
51. Monisha J., Tenzin T., Naresh A., Blessy B. M., Krishnamurthy N. B. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. Interdisciplinary Toxicology. 7(2), 60-72.
52. Monograph. (2004). *Withania somnifera*. Alternative Medicine Review. 9(2), 211-214.
53. Moreno M. T., Torrecasana E., Salvadó J. S., Blanch C. (2015). Nutritional composition and fatty acids profile in cocoa beans and chocolates with different geographical origin and processing conditions. Food Chemistry. 166, 125-132.
54. Mortvedt J.J., Gilkes R.J. (1993) Zinc Fertilizers. In: Robson A.D. (eds) Zinc in Soils and Plants. Developments in Plant and Soil Sciences, vol 55. Springer, Dordrecht.
55. Mourato M. P., Moreira I. N., Leitão I., Pinto F. R., Sales J. R., Martins L. L. (2015). Effect of heavy metals in plants of genus *Brassica*. International Journal of Molecular Sciences. 16, 17975-17998.
56. Palmer P. T., Jacobs R., Baker P. E., Ferguson K., Webber S. (2009). Use of Field-Portable XRF analyzers for rapid screening of toxic elements in FDA-regulated products. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 57, 2605-2613.
57. Pessanha S., Guilherme A., Carvalho M. L. (2009). Comparison of matrix effects on portable and stationary XRF spectrometers for cultural heritage samples. Applied Physics A 97, 497–505.

58. Pizarro F., Olivares M., Uauy R., Contreras P., Rebelo A., Gidi V. (1999). Acute gastrointestinal effects of graded levels of copper in drinking water. *Environmental Health Perspectives* 107, 117-121.
59. Potterat O. (2010). Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): phytochemistry, pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity. *Planta Medica*. 76(1), 7-19.
60. Radocaj O., Dimić E., Tsao R. (2014). Effects of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil press-cake and decaffeinated green tea leaves (*Camellia sinensis*) on functional characteristics of gluten-free crackers. *Journal of Food Science* 79, 318-325.
61. Rahman A., Persson L. A., Nermell B., El Arifeen S., Ekstrom E. C., Smith A. H., Vahter M. (2010). Arsenic exposure and risk of spontaneous abortion, stillbirth, and infant mortality. *Epidemiology*. 21, 797-804.
62. Ramirez-Cardenas L., Costa N. M. B., Reis F. P. (2005). Copper-iron metabolism interaction in rats. *Nutrition Research*. 25, 79-92.
63. Rangspanuratn W., Kammarnjassadakul P., Janwithayanuchit I., Sandee A. (2017). Detection of microbes, aflatoxin and toxic heavy metals in Chinese medicinal herbs commonly consumed in Thailand. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 44(3), 162-171.
64. Raven P. H., Evert R. F., Eichhorn S. E. (2005). *Biology of Plants*, 7th ed., W. H. Freeman and Company Publishers (New York). 686pp
65. Reddaiah V. P., Raj P., Ramachandran K., Nath L. M., Sood S. K., Madan N., Rusia U. (1989). Supplementary iron dose in pregnancy anemia prophylaxis. *Indian Journal of Pediatrics*. 56, 109-114.
66. Regulamento (UE) N° 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho de 25 de Outubro de 2011.
67. Robert R. (2009). Nutritional properties of cocoa. Appendix 10, *In*: Grivetti, Shapiro (Eds.), *Chocolate: History, Culture, and Heritage*, John Wiley & Sons, Inc.,.

68. Rubio J., Caldas M., Dacila S., Gasco M., Gonzales G. F. (2006). Effect of three different cultivars of *Lepidium meyenii* (maca) on learning and depression in ovariectomized mice Complement Alternative Medicine. 6(1), 23-27.
69. Samman S., Roberts D. C. (1988). The effect of zinc supplements on lipoproteins and copper status. Atherosclerosis. 70, 247-252.
70. Shivani G. V., Meenakshi G. (2014). Health benefits of *Moringa oleifera*: a miracle tree. International Journal of Food and Nutritional Sciences. 3(3), 111-117.
71. Tidwell B. S., Ayers J. C., (2011). Phytoremediation of arsenic and lead using *Brassica rapa*. Young Scientist Journal. 19-21pp.
72. Tomaru M., Takano H., Osakabe N., Yasuda A., Inoue K., Yanagisawa R., Ohwatari T., Uematsu H. (2007). Dietary supplementation with cacao liquor proanthocyanidins prevents elevation of blood glucose levels in diabetic obese mice. Nutrition. 23, 351-355.
73. Toxicological profile for arsenic. (2007). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. U. S. Department of Health and Human Services. Consultado a 9 de Setembro de 2018: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp2.pdf>.
74. Toxicological profile for lead. (2007). Agency for toxic substances and disease registry. U. S. Department of Health and Human Services. Consultado a 9 de Setembro de 2018: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp13.pdf>
75. Tseng, CH (2005) Blackfoot disease and arsenic: a never-ending story. Journal of Environmental Science and Health, Part C. 23(1), 55-74.
76. Ulbricht C., Bryan J. K., Costa D., et al. (2014). An evidence-based systematic review of Goji (*Lycium* spp.) by the Natural Standard Research Collaboration. Journal of Dietary Supplements. 12(2), 184-240.

77. União Europeia, Segurança dos alimentos na UE – EUROPA (2018).
Consultado em Agosto 2018: https://europa.eu/european-union/topics/food-safety_pt
78. Varo P., Saari, E., Paaso A., Koivistoinen P. (1982). Strontium in finnish foods. International Journal for Vitamin and Nutrition Research. 52(3), 342-50.
79. Wang Y., Wang Y., McNeil B., Harvey L. M. (2007). Maca: an Andean crop with multi-pharmacological functions. Food Research International. 40, 783-792.
80. Willett W., Sesso H., Rimm E. (2013). Food and vitamins and supplements! oh my! Demystifying nutrition: the value of food, vitamins and supplements. The Joseph B. Martin Conference Center Harvard Medical School.
81. World Health Organization. (1996). Trace elements in human nutrition and health. Geneva: WHO 343 pp.
82. Yang G., Zhou R., Yin S., Gu L., Yan B., Liu Y., Liu Y., Li X. (1989). Studies of safe maximal daily selenium intake in a seleniferous area in China. I. Selenium intake and tissue selenium levels of the inhabitants. Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease. 3, 77-87.
83. Yllescas-Gutierrez M. G., (1994). Estudio químico y Fisicoquímico de tres ecotipos de *Lepidium meyenii* procedentes de Carhuamayo. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Peru. 103 pp.
84. Yuyama L. K. O., Aguiar J. P. L., Yuyama K., Lopes T. M., Fávaro D. I. T., Bergi P. C. P., Vasconcellos M. B. A. (2003). Teores de elementos minerais em algumas populações de Camu-Camu. Acta Amazonica. 33(4), 44-67.
85. Yuyama K. (2011). “A cultura de camu-camu no Brasil”, Revista Brasileira de Fruticultura. 33(2), 335-690.
86. Zhang J., Wang H. M., Zhao Y. L., Zuo Z. T., Wang Y. Z., Jin H. (2015). Comparison of mineral element content in a functional food Maca (*Lepidium meyenii Walp.*) from Asia and South America. Journal of Analytical Methods

in Chemistry. Article ID 530541, 4 pages

<http://dx.doi.org/10.1155/2015/530541>

Lista de Sites Consultados

- (<https://www.reuters.com/brandfeatures/venture-capital/article?id=5660>). Consultado a 1 de Setembro de 2018
- (<http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf>). Consultado a 1 de Setembro de 2018
- (<http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf>). Consultado a 5 de Setembro de 2018
- (<http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/Metals/ucm280202.htm>). Consultado a 5 de Setembro de 2018
- (<https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp7-c1-b.pdf>). Consultado a 8 de Setembro de 2018